Über die freien und die gebundenen organischen Säuren in Würze und Bier.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

genehmigt

von der philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Von

Fiepko Carl ten Doornkaat Koolman

aus Westgaste bei Norden.

Tag der Promotion: 17. Dezember 1913.

Referenten: Geh. Rat Prof. Dr. **C. Beckmann.**
Geh. Rat Prof. Dr. **S. Gabriel.**

Druck von Gebr. Unger in Berlin, Bernburger Straße 30.

Meiner lieben Mutter

und dem Andenken meines lieben Vaters.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547615_0103

Einleitung.

Während der letzten zehn Jahre hatte die Eiweißfrage fast das ganze Interesse der Brauerwelt in Anspruch genommen. Mit wenigen Ausnahmen beschäftigten sich Theoretiker und Praktiker in erster Linie mit der Erforschung des Einflusses, den das „Eiweiß" in der Gerste auf deren Werdegange bis zum fertigen Bier für den ganzen Bierbereitungsprozeß habe.

Wenngleich diese Arbeiten den Verhältnissen wohl Rechnung trugen, unter denen das Braugewerbe heutigen Tages versuchen muß, gleichen Schritt mit den übrigen Industrien in bezug auf Ergiebigkeit und Ausnutzung zu halten, ohne daß eine Verschlechterung der Erzeugnisse eintritt, so konnte es dennoch nicht ausbleiben, daß manche nicht minder wichtige Frage nicht genügend berücksichtigt wurde.

Wohl gelang es nach manchen Fehlschlägen, eine Gerste zu züchten, die den hohen Anforderungen entspricht, die der Brauer an diesen für ihn so wichtigen Rohstoff zu stellen gezwungen ist. Auch war es gelungen, im Anschluß an diese Arbeiten ein Verfahren auszuarbeiten, mit dessen Hilfe es auch den durch ungünstige Bedingungen benachteiligten Brauereien gelang, eine Bierwürze herzustellen, aus der ein Bier mit all den Eigenschaften werden konnte, die man an ein gutes Lagerbier stellt. Es war das Eiweißrastverfahren, das W. Windisch ganz besonders der Brauerwelt empfahl. Es besteht darin, daß während des Maischprozesses die Maische bei 50° etwa eine halbe bis eine Stunde gehalten wird, d. h. bei der Temperatur, die für die eiweißabbauenden Enzyme des Malzes die Optimaltemperatur bildet.

Auch wurde als Ausbeute erhöhend das alte Verfahren des kalten Einmaischens mit nachfolgender Ruhe der Maische während etwa sechs Stunden — das sogenannte Vormaischen — erkannt und wieder eingeführt, nachdem dieses alte Rezept der bayerischen Bierbrauer in den achtziger Jahren hauptsächlich in Norddeutschland aufgegeben worden war. Man war überzeugt, daß bei den Temperaturen, bei denen die Maische stand, die Bakterien, die auf dem Malz vorhanden sind, zur Entwicklung gelangten und durch ihre Ausscheidungsprodukte den günstigen Einfluß ausübten. Daß es sich hier in erster Linie um säurebildende Bakterien handelte und daß durch die Bildung von Körpern, die gegen Lackmus sauer reagieren, auch die Würze eine höhere Azidität erhält, blieb lange unbeachtet. Man nahm diese Tatsache hin, der eine angenehm überrascht von dem veränderten Charakter seines Bieres, das viel schneidiger geworden war, der andere kaum einen wesentlichen Unterschied bemerkend, oder gar mit dem so hergestellten Biere unzufrieden.

Trotz all dieser Erfolge bemerkte der Brauer, und zwar hauptsächlich der norddeutsche, mit immer größerer Deutlichkeit den Wettbewerb, der seinem Biere in den Exportbieren der bayerischen und böhmischen Braue-

reien erwuchs. Es wurden alle erdenklichen Versuche angestellt, um den Charakter dieser „Eindringlinge", der etwas Bestechendes für den Verbraucher hatte, auch in den norddeutschen Bieren zu erzielen. Man brachte Münchener Wasser, Malz, Hopfen und Hefe nach Norddeutschland und stellte daraus Bier nach Münchener Brauverfahren her. Doch das Ergebnis war völlig unbefriedigend. Das erzielte Bier war eben kein Münchener Bier. Dieselben Mißerfolge mit Pilsener Rohmaterial. Man sah ein, daß dieser Weg nicht gangbar sei.

Es blieb also nichts anderes übrig, als zu versuchen, durch gute, wohlcharakterisierte Biere den sogenannten echten Bieren einen Teil des eroberten Gebietes wieder zu entreißen. Da aber in Norddeutschland der Typus des hellen Bieres weit überwiegt, so war es erforderlich, das Augenmerk darauf zu richten, ein Bier, dem Pilsener ähnlich, zu brauen.

Auch hier war es W. Windisch, der den entscheidenden Anstoß in seinem Vortrage auf der Oktobertagung des Vereins Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin im Jahre 1910 gab, der das Thema behandelte: „Über die neuzeitigen Reformbestrebungen in Mälzerei und Sudhaus, besonders in ihrer Beziehung zur Beschaffenheit des Brauwassers"[1]). Zum ersten Male wurde hier die Frage der Azidität vom Standpunkt des Praktikers aus angeschnitten. Wohl hatte Prior[2]) schon auf die Wichtigkeit der Azidität des Bieres und namentlich der Würze für den besonderen Biercharakter hingewiesen und an Hand von Ausführungen und Formeln die Möglichkeiten erwogen, die das Vorhandensein von organischen Säuren in der fertigen Würze erklärlich machen. Die Übertragung dieser Gedankengänge und eingehende Versuche in der Praxis blieben Windisch vorbehalten. Er ist es auch gewesen, der den schädlichen Einfluß der Karbonate, namentlich der Erdalkalikarbonate und den günstigen Einfluß des Gipses auf die Azidität der herzustellenden Würze in ihrer ganzen Tragweite erkannte und Vorschläge zur Verbesserung des Brauwassers machte.

Es war indes notwendig, zunächst durch praktische Versuche den zu machenden Vorschlägen eine greifbare Grundlage zu geben.

Zu diesem Zwecke unternahm Windisch in einigen Großbetrieben Maischversuche, bei denen er die Entkarbonisierung durch Abkochen des Wassers und Neutralisation desselben mit anorganischen Säuren vornahm.

Ausgehend von der bekannten Tatsache, daß Gipswässer ausbeuteerhöhend seien, wurden namentlich in zwei vorzüglich geleiteten Betrieben die Einmaischwässer der Versuchssude mit der zur Entkarbonisierung nötigen Menge Schwefelsäure versetzt. Das Resultat war sehr ermutigend, denn die erhaltene Würze war heller als die nach dem üblichen Verfahren hergestellte, der „Bruch" beim Ausschlagen vorzüglich und die abgesetzte Würze „blitzblank". Außerdem war die Ausbeute um etwa 1—2 pCt. gestiegen. Also alles Ergebnisse, die die erwarteten Verbesserungen bestätigten und zu weiteren Versuchen Anlaß gaben. Ähnliche Versuche wurden mit Salzsäure ausgeführt, die fast dieselben Erscheinungen zeitigten. Waren also die Würzen wohl bedeutend besser als die mit dem gewöhnlichen Brauwasser hergestellten, so ließen sich die Gärungen dieser „sauren" Würzen doch nicht so günstig an. Zwar konnten die Biere zur selben Zeit auf das Lagerfaß „geschlaucht" werden, wie die gewöhnlichen Biere, doch hatte die Hefe offenbar Anstoß an der Zusammensetzung der Würze genommen. Das Gärungsbild war ein ganz anderes geworden, und die Hefe hatte sich nicht so fest wie sonst abgesetzt.

Die Kostprobe endlich der abgelagerten Biere der einen in Frage stehenden Brauerei gab folgendes Gesamturteil:

Das „Chlorid"-Bier war ziemlich dünn,

1) Jahrbuch der V. L. B. 1910, S. 279 ff.

2) Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres.

hatte einen unangenehmen Nebengeschmack und rief einen eigenartig als „hart" zu bezeichnenden Eindruck auf der Zunge hervor. Der Hopfen, der in der für die Brauerei üblichen Menge zugesetzt war, kam nur ungenügend in Vergleich zu dem Originalbier zum Ausdruck.

Im „Sulfat"-Bier wurde ein schwach weiniger, weichlicher Charakter festgestellt. Im übrigen hatte es namentlich auch in der Farbe ziemliche Ähnlichkeit mit dem „Chlorid"-Bier.

Das dritte Bier, das nach dem Betriebsverfahren der Brauerei hergestellt war und bei dem das Glattwasser (d. h. das mit weniger als 0,3 pCt. Extrakt von den Trebern ablaufende Nachgußwasser), das durch Bakterien sauer geworden war, zum Einmaischen verwendet war, hatte keine Geschmackseigentümlichkeiten, die hätten beanstandet werden können.

Um so mehr konnte man aber schon durch den Geschmack feststellen, daß das vierte Bier aus dem karbonathaltigen Betriebswasser der Brauerei ohne jegliche natürliche oder künstliche Säurung hergestellt war. Es hatte den Typus eines Karbonatbieres, war ziemlich vollmundig und rund auf der Zunge, im übrigen wenig fein, vielmehr plump und ohne jeden besonderen Charakter.

Ergaben diese äußerlichen Unterschiede schon genügend Fingerzeige für die weitere Behandlung der Entkarbonisierungsfrage, so hatte es doch ein großes Interesse, diese Biere auch chemisch auf ihren Säuregehalt zu untersuchen, um daraus weitere Schlüsse auf die Vorzüge beim Sudprozeß und bei der Gärung zu ziehen.

Die bisher gebräuchlichen Methoden der Untersuchung von Bieren und Würzen auf ihre „Azidität" (d. h. die Anzahl Kubikzentimeter verbrauchter n/10-Lauge, multipliziert mit 0,009 pro 100 ccm Flüssigkeit mittels Titration gegen Lackmus oder Phenolphtalein gaben durchaus keine Anhaltspunkte für ihren tatsächlichen Gehalt an freien organischen Säuren.

Herr Professor Windisch übertrug mir die Aufgabe, diese von ihm so hergestellten Biere eingehend auf ihren Säuregehalt hin zu untersuchen.

Zur Lösung dieser Aufgabe hielt ich es für erforderlich, folgende Fragen näher zu prüfen:

1. Welches sind die Entstehungsmöglichkeiten organischer Säuren im Bier?
2. Welche organische Säuren kommen in der Hauptsache in Frage?
3. Wie sind Biere, die unter gewöhnlichen Betriebsverhältnissen hergestellt sind, bezüglich der organischen Säuren zusammengesetzt?
4. Inwiefern hängt die Azidität eines Bieres von der Heferasse ab?
5. In welcher Weise macht sich die Entkarbonisierung des Brauwassers
   a) mit anorganischen Säuren,
   b) auf natürlichem Wege durch Abkochen

   bemerkbar und
   c) inwieweit wird der Säuregehalt durch das saure Maischwasser geändert

   im Vergleich mit den Bieren desselben Betriebes, die aus dem unveränderten Brauwasser hergestellt sind?

Theoretischer Teil.

Über die Herkunft der Milchsäure in gegorenen Flüssigkeiten, soweit diese nicht einer Milchsäuregärung direkt unterworfen sind, ist bis in die allerneueste Zeit hinein eine absolut einwandfreie Erklärung noch nicht gefunden, auch haben die vielen Untersuchungen auf dem biochemischen und mikrobiologischen Gebiet Anhaltspunkte bisher nicht geliefert. Dasselbe gilt von den übrigen organischen Säuren, besonders von der Ameisensäure und Essigsäure.

Baeyer[1]) nimmt an, daß die Hefe bei der Gärung den Zucker in Milchsäure spalte nach der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_3H_6O_3,$$

und daß erst die so gebildete Milchsäure weiterhin abgebaut würde bis zu den Endprodukten, Alkohol und Kohlensäure.

Schon Pasteur[2]) hatte 1857/58 als Nebenprodukte bei der alkoholischen Gärung Glyzerin und Bernsteinsäure nachgewiesen; ein Beweis, daß bei Vergärung von Bierwürze außer Alkohol und Kohlensäure noch andere organische Verbindungen entstehen. Freilich über die Entstehung und das Vorhandensein von Milchsäure im Bier war diesem Forscher nichts bekannt.

Während man in jungen sowohl wie in abgelagerten Weinen vor etwa zehn Jahren Milchsäure einwandfrei nachwies (Kunz)[3]), ist man beim Bier bis auf den heutigen Tag noch im unklaren gewesen. Daß Milchsäure im Bier vorkommt, werde ich im praktischen Teil dieser Arbeit nachzuweisen versuchen.

Hier möchte ich auf die einzelnen Gedankengänge und Ergebnisse derjenigen Forscher, die dieses Kapitel der Stoffwechselprodukte bei der Gärung eingehend bearbeitet haben, kurz hinweisen.

Die Buchnerschen[4]) Arbeiten über die Zymasegärung haben das Wesen jeglicher Gärung erst erkennen lassen. Die bis dahin gemachten Untersuchungen und aufgestellten Behauptungen über die Tätigkeit der Hefe bei der Gärung wurden zu einem großen Teile hinfällig. Es entspann sich ein, auch heute noch nicht beigelegter Disput, ob bei der Vergärung des Rohrzuckers neben Alkohol und Kohlensäure noch andere Produkte entstehen. Um die bestehenden Meinungsverschiedenheiten zu beseitigen, haben Buchner und Meisenheimer[5]) durch ausgedehnte Versuche den Beweis zu erbringen versucht, daß die Gärung der Dextrose mittels Reinzuchthefen als Endprodukte nur Alkohol und Kohlensäure liefere. Sie haben mit Hilfe ganz neuer Apparate, die jeden Verlust der

1) Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft Bd. VII, 1870.

2) Die Alkoholgärung, deutsch von Dr. V. Grißmayer, Stuttgart 1878.

3) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1901.

4) E. Buchner, H. Buchner, M. Hahn: „Die Zymasegärung" 1903.

5) Thiels landwirtschaftliche Jahrbücher (Festschrift) 1909.

entstehenden Produkte unmöglich machten, Zucker in Lösungen von verschiedener Konzentration mit einem Stamm Reinzuchthefe vergoren, haben die Versuche dahin ausgedehnt, daß sie Milchsäure in verschiedenen Mengen zusetzten, und doch konnten sie niemals andere Umsetzungsprodukte als Alkohol und Kohlensäure nachweisen, während zugesetzte Milchsäure nach Beendigung der Gärung unvermindert vorgefunden wurde.

Wenngleich so die Bildung von Säuren bei der Gärung reiner Zuckerlösungen außer durch spezifische Bakteriengärung unwahrscheinlich ist, so ist doch darauf hinzuweisen, daß gerade in Bierwürze, die mit Reinzuchthefe vergoren ist, organische Säuren neben Glyzerin gefunden sind. Wie schon oben erwähnt, konnte Pasteur Bernsteinsäure nachweisen.

Zopf[6]) hat mittels des Saccharomyces Hansenii verschiedene Zuckerarten vergoren, wobei er die Bildung von Oxalsäure nachweisen konnte.

In allerneuester Zeit haben Frantzen und Steppuhn[7]) in ausführlicher Weise die Anwesenheit von Ameisensäure in gegorener Bierwürze nachgewiesen. Sie haben die Würze mit Reinzuchthefe vergoren, aber auch mit Betriebshefe, und dabei festgestellt, daß Ameisensäure von der Hefe sowohl gebildet, als auch verbraucht wird. Die gefundene Ameisensäure stellt also den Überschuß an neugebildeter gegenüber der verbrauchten dar.

Thomas[8]) hat nachgewiesen, daß Hefe bei Vorhandensein stickstoffreicher Nahrung zu einer stärkeren Bildung von Ameisensäure veranlaßt werden kann, und führt diese Erscheinung auf die Vergärbarkeit der Aminosäuren zurück. Diese Möglichkeit wird von Frantzen und Steppuhn zugegeben, auch die Untersuchungen Ehrlichs[9]) bestätigen, daß die Bildung der Ameisensäure und überhaupt der organischen Säuren in eiweißhaltigen Zuckerlösungen auf diesem Wege der Aminosäurevergäung vor sich geht. Ehrlich erklärt diese Gärung so, daß sich aus der Aminosäure unter Freiwerden von Ammoniak die Oxysäure bildet, die im weiteren Verlauf der Gärung entweder zur Säure mit einem C-Atom weniger oder zum Aldehyd + Ameisensäure wird, die dann weiter abgebaut werden. Wie weit indes diese Entstehungsmöglichkeit wirklich zur Bildung von Säuren in eiweißhaltigen Zuckerlösungen in Frage kommt, hat noch nicht entschieden werden können.

Bei der Bierwürze, die etwa 8—10 pCt. Eiweiß enthält, wäre immerhin die Möglichkeit dafür gegeben.

Für alle bisher ungeklärten Fragen der Bildung von Nebenprodukten bei der Gärung scheint die von Schade[10]) aufgestellte, durch die Arbeiten von Wohl[11]) und Ehrlich[12]) schon vorher angeregte Theorie einen Schlüssel zu geben.

Schade behandelt in seiner Arbeit „Vorgänge der Gärung vom Standpunkte der Katalyse" die Möglichkeit der Spaltung des Zuckers mit Hilfe der katalysierenden Wirkungen anorganischer Körper in die Gärungsendprodukte, Alkohol und Kohlensäure.

Er stellt sich die Frage zur Beantwortung: „Ist es möglich, vom Zucker als Ausgangsmaterial aus mit Hilfe einfacher Katalysatoren zu Abbauprodukten zu gelangen, die mit denen der Gärung, speziell der alkoholischen und der Milchsäuregärung vergleichbar sind?"

Er verweist zunächst auf die einfache glatte

6) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen 1889, S. 177.

7) Hoppe-Seylers physiologische Zeitschrift 1912.

8) Comptes rendus Bd. 136, S. 1015.

9) Biochemische Zeitschrift Bd. I, S. 31; Bd. II, S. 52; Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft Bd. 40, S. 1027.

10) Biochemische Zeitschrift Bd. VII, 1908, S. 299 ff.

11) Biochemische Zeitschrift Bd. V, 1907, S. 45.

12) Biochemische Zeitschrift Bd. II, 1906, S. 52.

Spaltung, die die Dextrose mit Hilfe der von Buchner entdeckten Milchsäurebakterienenzyme erleidet, wobei beide Teile als Milchsäure auftreten. Nach der Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_3H_6O_3.$$

Doch auch Katalysatoren sind imstande, bis zu 60 pCt. der zersetzten Zuckermenge in Milchsäure überzuführen, wie Versuche von Hoppe-Seyler und Kiliani[13]), Ducleaux[14]) und Schützenberger[15]) bewiesen haben. Es gibt also für den Vorgang der Milchsäuregärung eine rein chemische Parallele, die OH-Ionen sind es, die diesen Vorgang einleiten.

Die Spaltung der Milchsäure mit Hilfe der Schwefelsäure in Ameisensäure und Azetaldehyd scheint nach der Definition Ostwalds ebenfalls ein katalytischer Vorgang zu sein, bei dem die Schwefelsäure sich mit keinem der entstehenden Körper bindet.

Die Ameisensäure und der Azetaldehyd aber bilden, wie Schade[16]) schon früher hat nachweisen können, die Vorstufe zu Alkohol und Kohlensäure. Mit Hilfe von Rhodiummohr ist es ihm gelungen, Ameisensäure und Azetaldehyd so gut wie quantitativ zu zerlegen nach der Gleichung:

$$CH_3CHO + HHOOC = CH_3CH_2OH + CO_2,$$

wobei der durch die Spaltung der Ameisensäure frei werdende H_2 „in statu nascendi" den Aldehyd zu Alkohol reduziert.

Auf Grund dieser Ausführungen kommt Schade zu folgendem Schema:

Dextrose
(Alkali als Katalysator),
Milchsäure
(Schwefelsäure als Katalysator),
Azetaldehyd + Ameisensäure,
(Rhodiummohr als Katalysator),
Alkohol + Kohlensäure.

Man ist mithin in der Lage, die Gärungserscheinungen mittels anorganischer Katalysatoren hervorzurufen, und die Endprodukte, die man bisher als spezifische Gärungsprodukte ansehen zu müssen glaubte, sind rein chemisch darstellbar. Bei der zellfreien Zymasegärung wird die Anzahl der gebildeten Nebenprodukte auf drei reduziert, unter denen sich die Milchsäure und die Ameisensäure finden. Daneben tritt dann noch die Essigsäure auf[17]).

Nun kommt freilich Schade selbst im Verlauf seiner Ausführungen zu der Ansicht, daß die Spaltung der Milchsäure in Ameisensäure und Azetaldehyd nicht ganz so einfach liege, wie es anfänglich den Anschein hatte. Schon die von Buchner und Meisenheimer nachgewiesene Beständigkeit der Milchsäure bei der Gärung läßt Zweifel an der Richtigkeit dieser Hypothese aufkommen. Vielmehr scheint ein labilerer Körper diese Vorstufe zu bilden; Buchner und Meisenheimer sind der Ansicht, daß hierher der Glyzerinaldehyd

$$CH_2\,OH\,CH\,OH\,COH$$

in Frage käme; Wohl hat die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß es Methylglyoxal

$$CH_3 - CO - CHO$$

sein könnte. Auf jeden Fall spricht für die Annahme, daß ein Isomeres der Milchsäure die eigentliche Vorstufe bildet, daß es in alkalischen Zuckerlösungen möglich ist, durch schwache Oxydationsmittel, z. B. Luftsauerstoff, die Bildung von Milchsäure zu verhindern. Frankel und Steppuhn sind sogar der Ansicht, daß vor dem Glyzerinaldehyd noch als weitere Vorstufe das Dioxyazeton einzuschalten ist, das neben Glyzerinaldehyd bekanntlich in der durch Oxydierung von Bleiglyzerat mittels Brom entstehenden Glyzerose in beträchtlichen Mengen vorkommt.

13) Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft Bd. IV, S. 396.

14) Comptes rendus soc. biol. Bd. 94, S. 169.

15) Comptes rendus soc. biol. Bd. 76, S. 470.

16) Zeitschrift für physikalische Chemie Bd. 57, S. 17—19.

ten Doornkaat Koolman, Dissertation.

17) E. Buchner, M. Buchner, M. Hahn: „Die Zymasegärung" 1903, S. 224.

Auf alle Fälle ist das Schema nach Schade dahingehend zu ändern, daß eine Zwischensubstanz angenommen wird, die der Milchsäure isomer ist und aus der diese sich soweit sie in gegorenen Flüssigkeiten vorgefunden wird, durch Umlagerung bildet:

Dextrose,
Zwischenstufe — Milchsäure,
(isomer der Milchsäure),
Azetaldehyd + Ameisensäure,
Alkohol + Kohlensäure.

Dieser Theorie schließen sich auch Frantzen und Steppuhn (a. a. O.) an, die die durch Vergärung von Aminosäuren entstehenden Säuren (hier Ameisensäure) nicht als einzige Produkte der alkoholischen Gärung angesehen wissen wollen. Sie sind auf Grund ihrer Arbeit zu der Ansicht gekommen, „daß Ameisensäure durch Hefen in erheblichen Mengen gebildet, aber auch vergoren wird, daß dieser Prozeß mit dem eigentlichen Zerfall des Zuckers im Zusammenhang steht und daß es ein enzymatischer Prozeß ist".

Aus dem Gesagten geht hervor, daß die von Buchner und Meisenheimer aufgestellte Behauptung vorläufig nur für reine Zuckerlösungen gilt.

Abgesehen von diesen Entstehungsmöglichkeiten der Milchsäure, kann gerade für Bierwürzen auch noch der Inosit in Frage kommen, der als Bestandteil des im Malz vorhanden gewesenen Phytins sich sicherlich in der Würze vorfindet. Vohl[18]) hat nachgewiesen, daß Inosit unter bestimmten Bedingungen in Milchsäure zerfallen kann. Daß bei diesem Zerfall, der mit faulem Käse oder mit Fleisch künstlich eingeleitet werden kann, auch wirklich Gärungsmilchsäure entsteht, weist dieser Forscher durch Untersuchung des Zinksalzes der entstehenden Säure nach. Dieses hat denselben Kristallwassergehalt wie Zinksalz, das aus reiner Gärungsmilchsäure hergestellt ist, nämlich 18,2 pCt., während das Zinksalz der Fleischmilchsäure nur 12 pCt. Kristallwasser hat.

18) Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft Bd. IX, S. 984.

Nach diesen theoretischen Erwägungen der Entstehungsmöglichkeiten der organischen Säuren in der Würze, möchte ich im folgenden die bisher üblichen Verfahren zur Bestimmung flüchtiger Säuren in gegorenen Flüssigkeiten, besonders auch der Milchsäure, besprechen.

Prior[19]) hat schon darauf hingewiesen, daß die flüchtigen Säuren in einem Vakuum abdestilliert werden müssen, so daß die zu destillierende Flüssigkeit 50° C. nicht überschreitet. Er verfährt dabei so, daß er die Vorlage mit n/10-Natronlauge beschickt, die er durch einen an der Vorlage befindlichen Glasperlenaufsatz hineinlaufen läßt, damit die Perlen benetzt werden. Dieser Aufsatz steht mit einer Saugflasche und diese mit einer Luftpumpe in Verbindung. Die Menge des Destillates soll bei 100 ccm angewandter Flüssigkeit 200—220 ccm betragen.

Kunz[20]) wendet bei seinen Untersuchungen über den Gehalt von Weinen an Milchsäure die bei der Weinanalyse übliche Methode der Dampfdestillation an; auch er bedient sich eines Glasperlenaufsatzes, auf dessen Wirkungsweise ich gelegentlich der Bestimmung der Milchsäure noch einzugehen habe. Das Quantum des Destillates gibt er mit 600—800 ccm für 200 ccm Wein an, um alle flüchtigen Säuren überzutreiben.

Während diese beiden Forscher die Milchsäure als nichtflüchtig behandeln, hat Partheil[21]) nachgewiesen, daß diese Säure mit überhitztem Wasserdampf quantitativ übergetrieben werden kann. Daß dieses Verfahren

19) Chemie und Physiologie des Malzes und des „Bieres".

20) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1901, S. 673.

21) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1902, S. 1050 ff.

anwendbar ist, beweisen die von ihm ausgeführten Analysen.

Die Trennung von Milchsäure und Essigsäure führt er nach der Vorschrift von Mach Portele[22]) aus, die von der Lösung, die das Gemisch dieser beiden Säuren enthält, vier Fünftel abdestillieren und dann auf das ursprüngliche Volumen auffüllen, um so nach viermaliger Destillation die Essigsäure im Destillat zu bestimmen. Doch ist Partheil der Ansicht, daß mit Hilfe der Methode von Pelouze[23]) sich genügende Werte erzielen lassen. Dieser Forscher benutzt die Tatsache zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure, daß man mit konzentrierter Schwefelsäure ein Drittel des Gewichts an vorhandener Milchsäure als CO abspalten und messen kann, freilich nur, wenn sie in genügender Konzentration oder als Salz vorliegt. ($CH_3 CHOH COOH = CH_3 CHO + H_2O + CO$.)

K. Windisch und Roettgen[24]) haben die Flüchtigkeit einzelner Säuren, namentlich der Ameisensäure, Essigsäure und Buttersäure untersucht und sind auf Grund vieler Untersuchungen zu dem Ergebnis gekommen, daß bei Anwendung der einfachen Dampfdestillation Essigsäure in 1prozentiger Lösung innerhalb 25 Minuten vollkommen übergetrieben wird. Die Menge des Destillates beträgt etwa 200 ccm. Bei Buttersäure liegen die Verhältnisse ähnlich, während Ameisensäure infolge ihres leichten Mischungsvermögens mit Wasser am schwersten überzutreiben ist, so daß 200 ccm bei 0,1 g angewandter Substanz nicht genügen.

Auch machen die letztgenannten Verfasser auf den Einfluß des Volumens der Destillationsflüssigkeit sowie auf den Umstand aufmerksam, daß die lichte Weite der Einströmungsröhre für den Dampf von großer Wichtigkeit ist. Sie stellten dabei fest:

1. Das Volumen ist während der Dauer der Destillation möglichst genau einzuhalten, die flüchtigen Säuren gehen nicht über, wenn das Volumen der Destillationsflüssigkeit zu groß wird. Bei zu großer Einengung desselben liegt die Gefahr vor, daß größere Mengen Milchsäure mitgerissen werden.
2. Die lichte Weite der Zuleitungsröhre soll nicht mehr wie 4 mm betragen. Die Dampfausströmungsspitze, die zweckmäßig nach oben gebogen ist, soll höchstens einen Durchmesser von 1 mm haben.
3. Der Wasserdampf darf nur wenig Überdruck haben, da sonst Milchsäure in erheblichen Mengen mitgerissen wird. Zu seiner Erzeugung dient am besten ein Dampftopf mit Sicherheitsrohr.
4. Milchsäure wird bei der Destillation nur spurenweise in Ameisensäure und Aldehyd gespalten.

Welde[25]) gibt für die Bestimmung der flüchtigen Säuren, die er im Magen- und Darminhalt ausgeführt hat, folgendes Verfahren an:

Er benutzt den Umstand, daß Milchsäure im Vakuum bei niedrigen Temperaturen (etwa 50—60 ° C.) nicht flüchtig ist, und verbindet damit das Verfahren zur Bestimmung der flüchtigen Säuren durch Übertreibung mit Wasserdampf in folgender Weise:

In einem Fraktionierkolben mit doppeltem Halse befindet sich das zu trennende Säuregemisch. Der Kolben wird in einem Wasserbade auf 60 ° erwärmt. Durch den einen Hals wird ein Dampfzuleitungsrohr eingeführt, die Dampfentwicklung in einem Dampferzeuger mit Sicherheitsrohr vorgenommen. Der zweite Hals des Fraktionierkolbens ist mit einem Tropftrichter von 100 bis 150 ccm Inhalt versehen, aus dem während der Destillation das Flüssigkeits-

22) Landwirtschaftliche Versuchsstationen 1890, Bd. 37, S. 305.

23) Annales de chem. Bd. 53, S. 221.

24) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1911, S. 155 ff.

25) Biochemische Zeitschrift 1910, Bd. 28, S. 104 ff.

volumen mit destilliertem Wasser konstant gehalten wird. Auf den Fraktionieransatz ist mittels Gummikorken ein Destillierkolben aufgesteckt, unter dem sich eine Auffangvorrichtung für das Kühlwasser befindet, mit dem er dauernd umspült wird. Dieser Destillierkolben steht mit einer Saugflasche mittels eines Rohres in Verbindung, das durch einen Gummikorken bis eben über dem Boden der Saugflasche geführt ist und somit in die vorgelegte n/10-Lauge ragt, die zum Auffangen etwa mitgerissener flüchtiger Säuren dient.

Nachdem der Apparat auf den Unterdruck gebracht ist, bei dem die Destillationen vorgenommen werden sollen, wird der Dampf eingeleitet, der eine Spannung von etwa 1 m Wassersäule hat. Es gelingt sehr leicht, die Dampferzeugung und den Verbrauch so zu regeln, daß der Druck konstant bleibt. Im praktischen Teil dieser Arbeit werde ich über die Versuche berichten, die ich selber mit dieser Apparatur ausgeführt habe.

Die Vorzüge dieses Verfahrens gegenüber der einfachen Dampfdestillation sind nach Welde folgende:

1. Bei 60 °C. sind bakterielle Zersetzungen ausgeschlossen, somit ist die Bildung irgendwelcher saurer Substanzen unmöglich.
2. Eiweiß, Fett, Kohlehydrate werden nicht verändert.
3. Die Milchsäure läßt sich im Destillationsrückstande ohne weiteres bestimmen.

Wenngleich derartige Nebenumstände und Komplikationen bei den in Frage stehenden Untersuchungen nicht zu befürchten waren, so erschien mir doch schon der Umstand eine eingehende Prüfung des Verfahrens zu rechtfertigen, daß die Milchsäure quantitativ im Destillationsrückstande zurückbleiben sollte. Auch scheinen mir die Untersuchungen von Kunz, der der teilweisen Flüchtigkeit der Milchsäure durch Anwendung eines Glasperlenaufsatzes zu begegnen versuchte, ohne zu einem gänzlich einwandfreien Resultat zu gelangen, keine Gewähr für die unbedingte Anwendbarkeit seiner Methode zu geben, trotzdem auch Windisch und Roettgen durch vergleichende Versuche festgestellt haben, daß dieser Glasperlenaufsatz von Kunz erheblich bessere Resultate gewährleistet, als der Kugelaufsatz, wie er bei der Destillation der flüchtigen Säuren aus Wein früher allgemein üblich war.

Die letztgenannten Forscher suchten zunächst festzustellen, wie große Mengen Milchsäure bei der Destillation als flüchtige Säure mit bestimmt würden. Bei einer Destillatmenge von 200 ccm und bei 0,1245 g angewandter, aus Zinklaktat freigemachter Milchsäure, fanden sie, daß 0,017 g Milchsäure als solche, und 0,015 g als Anhydrid übergegangen waren. Ähnlich verhielt sich auch eine wässerige Milchsäurelösung bei der Destillation. Wurde dagegen der von Kunz vorgeschlagene Glasperlenaufsatz verwandt, so verminderte sich diese Fehlerquelle merklich. Bei Anwendung von 0,2611 g Milchsäure fanden sich in 200 ccm Destillat 0,023 g Milchsäure. Mithin eine Abnahme von etwa 26 pCt. auf etwa 9 pCt. nicht wiedergefundener Säure.

Wenngleich also ein deutlicher Fortschritt durch den Kunzschen Glasperlenaufsatz erzielt war, so durfte ich mich bei den geringen Mengen Säuren, die überhaupt im Bier vorkommen, mit derartigen Resultaten nicht begnügen. Die Arbeit von Windisch und Roettgen, die zu einer Zeit erschien, als ich meine Vorarbeiten bereits beendet hatte, bestätigte meine Ansicht darüber.

Die Arbeiten von L. Roos und W. Mestrezat[26]), die festgestellt hatten, daß Milchsäure im luftverdünnten Raume nicht flüchtig sei, schienen mir einen neuen, gangbaren Weg zur Bestimmung der Milchsäure zu eröffnen. Zu derselben Zeit, als ich mich damit beschäftigte, eine Methode zur Be-

26) Annales chim. analyt. 1906, Bd. XI, S. 41.

stimmung dieser Säure auf Grund dieser Arbeit aufzubauen, veröffentlichte Welde[27]) jene schon genannte Abhandlung. Im weiteren Verlaufe dieser Arbeit werde ich darauf hinweisen, inwieweit ich das Welde'sche Verfahren nach eigenen Ideen geändert habe.

Während Kunz die Milchsäure von den übrigen fixen organischen Säuren dadurch trennt, daß er die Bariumsalze dieser Säuren mit 70prozentigem Alkohol behandelt, in welchem das Bariumlaktat löslich ist, verfährt Möslinger[28]) folgendermaßen:

Er neutralisiert den Destillationsrückstand beim Wein mit Barytlauge, nimmt das Ganze mit Alkohol auf, filtriert und verascht nach Vertreibung des Alkohols die organische Substanz. Aus der Alkalität der Asche berechnet er den Gehalt an Milchsäure im Wein. In einer weiteren Arbeit jedoch weist er darauf hin, daß diese Methode ungenaue Werte ergibt, und macht Vorschläge für ihre Verbesserung.

Da auch das Partheilsche Verfahren nach den Untersuchungen von Windisch und Roettgen nur bei Einhaltung ganz bestimmter Versuchsbedingungen einwandsfreie Resultate ergibt, so entschied ich mich für das von Kunz angegebene Trennungsverfahren der Milchsäure von den übrigen Säuren.

Bei der Bestimmung der Milchsäure ist aber auch noch auf die Eigenschaft der Milchsäure Bedacht zu nehmen, daß sie leicht Anhydride bildet. Namentlich in höheren Konzentrationen ist die Anhydridbildung so stark, daß bei der titrimetrischen Bestimmung einer solchen Lösung erhebliche Fehler unterlaufen, wenn man nicht auf diese Eigenschaft Bedacht nimmt.

Während Kunz annimmt, daß die Milchsäure in konzentrierten Lösungen aus zwei Molekülen Milchsäure ein Molekül Wasser abspaltet und so die sogenannte Laktylmilchsäure bildet, sind Windisch und Roettgen der Ansicht, daß sich das neutrale Anhydrid, das Laktid, durch Abspaltung von zwei Molekülen Wasser aus zwei Molekülen Milchsäure bildet.

Kunz gibt die Konstitution folgendermaßen an:

$$CH_3\,CHOH\,CO-O-CH-COOH.$$
$$\qquad\qquad\qquad\qquad\quad CH_3$$

Windisch und Roettgen dagegen:

$$CH_3-CHOH-HOOC$$
$$\qquad COOH\;\; HOCH-CH_3 =$$
$$CH_3-CH-OOC$$
$$\qquad COO-\quad\; CH-CH_3 + 2\,H_2O.$$

Dieser Widerspruch dürfte sich wohl daraus erklären, daß die zu den Versuchen angewandte Milchsäure verschieden hoher Konzentration gewesen ist.

Auf die von Besson[29]) angegebene Methode zur Titration von Milchsäurelösungen, namentlich solcher, die noch geringe Mengen Zucker usw. enthalten, möchte ich hier kurz verweisen. Derselbe weist darauf hin, daß Alkali in der Hitze Zucker in Milchsäure zu spalten vermag, so daß der zur Verseifung des vorhandenen Anhydrids zugegebene Überschuß daran eben nicht allein zu diesem Zweck verbraucht wird, wodurch ein zu hoher Gehalt an Milchsäure vorgetäuscht wird. Da ich es bei der Untersuchung der Würzen und Biere mit zuckerhaltigen Flüssigkeiten zu tun hatte und da sich bei der Extraktion derselben mit Äther wenn auch nur geringe Spuren Zucker lösten, so glaubte ich, die Beobachtung dieses Forschers nicht unberücksichtigt lassen zu dürfen.

Nachdem so die Frage der Trennung der einzelnen Säuregruppen und der Bestimmung der etwa vorhandenen Milchsäure genügend geklärt war, blieb noch die Frage der Gewinnung eines quantitativen Extraktes aus den zu untersuchenden Flüssigkeiten.

27) Biochemische Zeitschrift Bd. 28, S. 504 ff.

28) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1901, S. 1123.

29) Chemiker-Zeitung 1911, Bd. IV, S. 26.

Meine ersten Versuche galten der Prüfung des von Schacherl konstruierten und von Kunz[30]) empfohlenen Apparates, dessen Arbeitsweise ich kurz an der Hand beifolgender Skizze erläutern möchte.

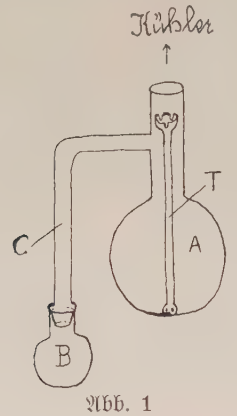


Abb. 1

Die zu untersuchende Flüssigkeit wird in den Kolben A gegeben, der nötigenfalls mit Wasser bis fast an den Halsansatz angefüllt wird. Der Äther befindet sich im Kolben B, der am besten mittels Glasschliffs mit dem seitlichen, rechtwinklig nach unten gebogenen Ansatzrohr C verbunden ist. In den Hals des Kolbens A ist ein langstieliger Trichter gebracht, dessen obere Öffnung sich oberhalb des Ansatzrohres C befindet, während das untere Ende in einer mit vier seitlichen Löchern versehenen Kugel ausläuft.

Der Äther in Kölbchen B wird erwärmt und steigt in den Kühler K, wird hier kondensiert und gelangt in den Trichter T. Aus diesem tritt er durch die vier Öffnungen in die zu extrahierende Flüssigkeit, diese durchstreichend und die ätherlöslichen Stoffe mit sich fortführend. Oben sammelt er sich an und fließt durch das Ansatzrohr C nach B zurück, um von neuem den Kreislauf zu beginnen.

Bei der Prüfung, deren Ergebnisse ich im praktischen Teil im Zusammenhang mit anderen Extraktionsversuchen bringen möchte, erwies sich dieser Apparat in der gewählten Größe von 1 Liter Inhalt als durchaus unzureichend. Die Ätherperlen stiegen viel zu dicht am Trichter auf und ließen die weiter abseits befindlichen Flüssigkeitsmengen unberührt. Auch traten die Ätherperlen stets nur aus einer oder höchstens zwei Öffnungen aus, wahrscheinlich infolge davon, daß diese nicht ganz gleichmäßig angebracht waren.

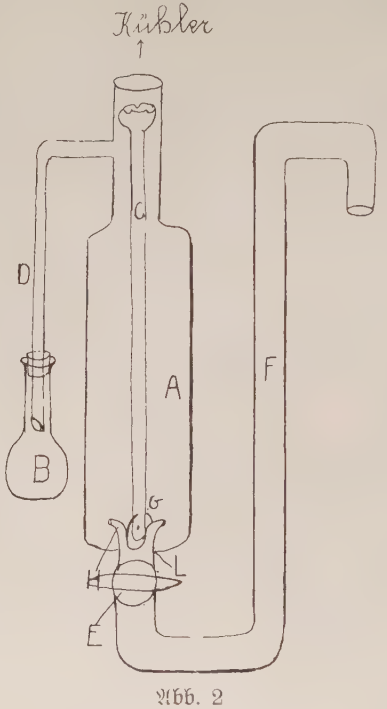


Abb. 2

Nach diesen vergeblichen Versuchen ließ ich nach eigenen Angaben einen Apparat bauen, der auf demselben Prinzip wie der Schacherlsche beruhte. Um die Ätherperlen zu zwingen, die gesamte Flüssigkeit zu durchstreichen, gab ich dem Apparat eine zylindrische Form von geringem Durchmesser. Außerdem war an der tiefsten Stelle des Kolbens des Zylinders A ein Rohr F, das mit einem Hahn E angeschlossen werden konnte, angebracht. Durch dieses Rohr sollte mittels einer Druckluftleitung Luft in den Kolben gelassen werden, um so den Inhalt aufrühren zu können.

Der Apparat arbeitete, trotzdem er auch

30) Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel 1901, S. 673.

1 Liter Inhalt hatte, wesentlich besser, wenngleich er bei der geringen Löslichkeit der Milchsäure im Äther auch noch keine voll befriedigenden Ergebnisse lieferte.

Die Wirkungsweise ist dieselbe wie beim Schacherlschen Extraktionsapparat. Eine ausführliche Beschreibung habe ich bereits in der „Wochenschrift für Brauerei" 1911, Nr. 20, sowie in der „Biochemischen Zeitschrift" 1911, Nr. 4, gegeben:

„Da indes auch dieser Apparat bei der geringen Ätherlöslichkeit der zu extrahierenden Substanzen bei den in Frage stehenden Untersuchungen keine völlig gleichmäßigen Resultate ergab, versuchte ich, unter Benutzung der von Partheil (Zeitschrift f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 4, 1901) zur Konstruktion eines Perforators angewandten Idee einen Ätherextraktionsapparat zu bauen.

Die Wirkungsweise dieses Apparates, dessen Bauart ich bereits in jener Abhandlung[31]) beschrieben habe, ist folgende:

(Siehe Abb. 3)

„Die zu extrahierende Flüssigkeit befindet sich in der Schlange S, die durch ein Rohr von bedeutend kleinerem Durchmesser als sie selbst mit dem Trichter T verbunden ist. Die sich in dem Kölbchen A entwickelnden Dämpfe steigen durch das Rohr Z in den Kühler, und der Äther tritt durch das Rohr E bei U in die Schlange, steigt in dieser in Perlen in der Flüssigkeit auf, sammelt sich in D und fließt von hier nach A zurück.

Um nun nach jedesmaligem Gebrauch den ziemlich großen und nicht sehr festen Apparat nicht aus dem Stativ nehmen zu müssen, um die extrahierte Flüssigkeit entfernen zu können, befindet sich an der tiefsten Stelle der Schlange ein Hahn H_2.

Der Kühler K kann auf den Einlauftrichter vermittelst Gummistopfen aufgesetzt werden, doch empfiehlt sich hier ein Glasschliff oder noch besser wird der Kühler gleich an den Apparat angeblasen, wodurch jeder Ätherverlust vermieden wird. Als Kühler genügt ein einfacher Kugelkühler mit fünf bis sechs Kugeln, doch leistet ein Soxhletscher Metallkühler auch gute Dienste.

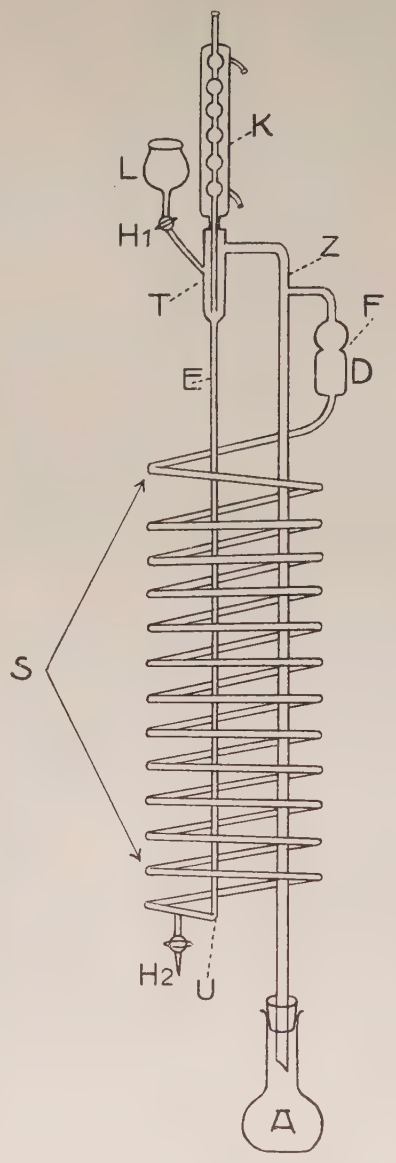


Abb. 3

Bei angeblasenem Kühler geschieht die Füllung des Apparates durch einen seitlich angebrachten Trichter mit Hahn, oder mittels

31) Wochenschrift für Brauerei Nr. 20; Biochemische Zeitschrift Bd. 34, S. 481 ff.

eines Trichters, der durch den Kühler bis in das Rohr E ragt.

Die Kugeln D, die sich am oberen Ende der Schlange S befinden, dienen dazu, die Flüssigkeitsteilchen, die mit den aufsteigenden Ätherperlen mitgerissen werden, sich absetzen zu lassen: die Einschnürung F soll diese Wirkung noch erhöhen. Die untere der beiden Kugeln hat zylindrische Form, damit die Ätherperlen die Flüssigkeit möglichst ganz durchstreichen, falls dieselbe noch in der Kugel steht. Der Inhalt der Hohlkörper kann bis auf 1000 ccm gesteigert werden.

Ausgedehnte Versuche über die Leistungsfähigkeit dieses Apparates ergaben Resultate, die als quantitative Werte, auch bei zwei parallel arbeitenden Apparaten, als durchaus hinreichend bezeichnet werden können, was bei der geringen Ätherlöslichkeit mancher Körper, die bei den Versuchen zur Anwendung kamen, mit Apparaten anderer Konstruktionen bisher nicht zu erreichen war."

Konstruktive Schwierigkeiten bei der Herstellung der Glasspiralen und die unbequeme Handhabung veranlaßten mich zu einigen durchgreifenden Änderungen, weshalb ich hier eine kleine Skizze dieser letzten Ausführung nebst Beschreibung folgen lasse.

(Siehe Abb. 4)

Im Gegensatz zu der spiralförmigen Ausführung ist dieser Apparate auf eine Ebene konstruiert, d. h. statt der Spiralen ist eine Schlange an deren Stelle getreten, die auf einem Brett befestigt ist. Dieses Brett ist auf Füße gestellt und der ganze Apparat daher leichter verschiebbar und stabiler. Im übrigen ist die Wirkungsweise wieder die, daß die zu extrahierende Flüssigkeit sich in der Schlange S befindet; der Äther wird in dem Kölbchen K mittels einer Heizvorrichtung verdunstet. Ich habe zu diesem Zweck einen einfachen elektrischen Ofen entworfen, der trotz seiner Einfachheit ausgezeichnete Dienste leistet und dabei eine ziemlich große Sicherheit gegen Feuersgefahr bietet.

In einem Holzkasten, der etwa einen Würfel von 15 ccm darstellt, sind an einer Seite an der unteren Hälfte zwei einfache sog. Edisonfassungen mit Hahn eingelassen und mit dem Porzellanring, der von innen eingeschraubt wird, fest angezogen. Zwei Kohlenfadenlampen von 25 HK. Lichtstärke dienen als Heizkörper; bei kleineren Mengen

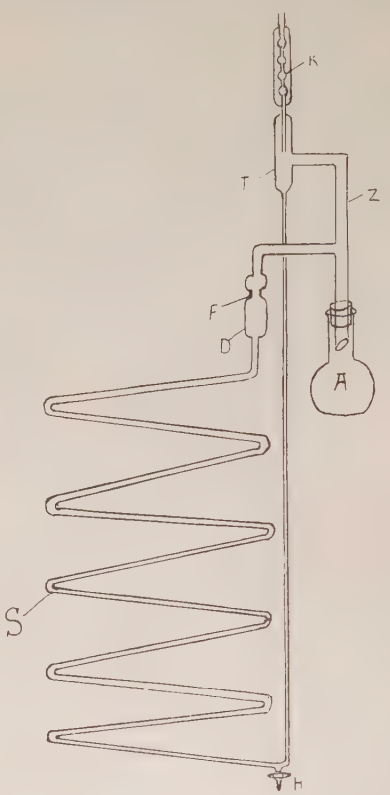


Abb. 4

Äther, die zu erwärmen sind, genügt eine Lampe.

Ich habe mit diesen Ofen während eines ganzen Jahres vier Extraktionsapparate ohne jede Unterbrechung in Betrieb gehabt, ohne daß je ein Unglücksfall eingetreten wäre. Auch habe ich das Abdestillieren von Äther stets nur mit diesen Ofen vorgenommen.

Der Ofen wird auf ein Brett gestellt, das an dem großen Brett seitlich angebracht ist.

Die Prüfungsergebnisse für alle diese Apparate sind im praktischen Teil dieser Arbeit zusammengestellt.

Über die Phosphate in Malz und Bier.

Bekanntlich enthält das ausgereifte Getreidekorn eine beträchtliche Menge Phosphorsäure, die sowohl im Keimling selbst, als besonders in der das Endosperm umgebenden Aleuronschicht einen Hauptbestandteil bildet.

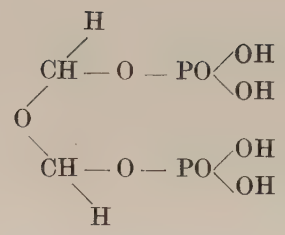
W. Windisch[32]) hat zusammen mit Vogelsang Untersuchungen angestellt, die darauf hinzielten, festzustellen, in welcher Form diese Phosphorsäure gebunden sei. Sie konnten dabei feststellen, daß Auszüge von Gerstenmehl, die mit kaltem, destillierten Wasser unter Zusatz von Chloroform hergestellt waren, um die Wirkung irgendwelcher bakteriellen und enzymatischen Zersetzungen auszuschließen, nur organisch gebundene Phosphorsäure enthielten.

Über die Natur dieser Verbindungen der Phosphorsäure wußte man schon frühzeitig, daß sie neben den kristalloiden Eiweißkörpern als sog. Globoide in den Aleuronkörnern vorkommen.

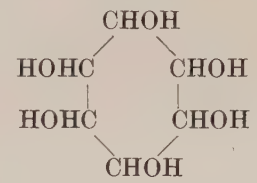
Die Frage nach der Konstitution, namentlich der einen dieser organischen Phosphorverbindungen, des Phytins, das den Hauptteil der organisch gebundenen Phosphorsäure des Gerstenkorns enthält, ist von einer Anzahl Forscher bearbeitet worden. Die Globoide in den Aleuronkörnern enthalten als einen Hauptbestandteil diesen Körper.

Posternack[33]) hat seine Natur zuerst näher festgestellt und gefunden, daß der als Phytin bezeichnete Körper, der 26,05 pCt. organisch gebundene Phosphorsäure enthielt, das CaMg-Salz der Anhydrooxymethylendiphosphorsäure sei.

Die Konstitution nimmt er folgendermaßen an[34]):



Die Tatsache, daß dieser Körper, mit Mineralsäure gekocht, Inosit ergibt, der ja diese Konstitutionsformel hat:

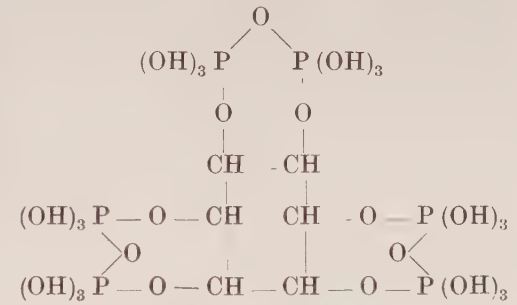


glaubt er dadurch erklären zu können, daß sich der Inositring aus drei Molekülen Phytin abspaltet nach der Gleichung:

$$3\,C_6H_8P_2O_9 + 3\,H_2O = (CHOH)_6 + 6\,H_3PO_4.$$

Im Gegensatz zu dieser Annahme Posternacks sind Neuberg und Brahn[35]) der Ansicht, daß das Phytin bereits einen präformierten Inositring besitze. Sie kommen zu dieser Annahme, weil die Abspaltung des Inosits mit Mineralsäure innerhalb weniger Minuten quantitativ vor sich geht.

Darnach käme dem Körper diese Konstitutionsformel zu:



In einer weiteren Arbeit bringt Neuberg[36]) weitere Beweise für die Richtigkeit

32) Wochenschrift für Brauerei 1908, S. 52 ff.

33) Rev. generale de Bot. Bd. XII, S. 5.

34) Comptes rendus de l'acad. de Sc. 137, 202, 337 und 439.

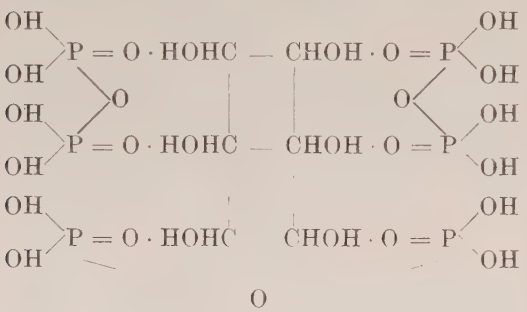
ten Doornkaat Koolman, Dissertation.

35) Biochemische Zeitschrift 1907, Bd. V, S. 443.

36) Biochemische Zeitschrift 1908, Bd. IX, S. 551, 560.

seiner Annahme. Es ist ihm gelungen, aus Phytin direkt Furfurol darzustellen. Aber auch die Tatsache, daß die Japaner Suzuki, Takaishi und Yoshimura[37]) ein spezifisches Enzym zur Spaltung des Phytins gefunden haben, hält Neuberg für einen Beweis für die Richtigkeit der von ihm aufgestellten Konstitutionsformel.

Starkenstein[38]) dagegen kommt auf Grund seiner Arbeiten zu der Behauptung, daß auch die Angabe Posternacks, Phytin sei die Anhydrooxymethylendiphosphorsäure, nicht richtig sein könne; er gibt folgende Konstitutionsformel an:



Während nun die organisch gebundene Phosphorsäure in der ungekeimten Gerste, wie überhaupt in Samen, vorherrscht, findet man in keimenden Samen ein stetiges Anwachsen der anorganisch gebundenen Phosphorsäure, wie W. Zalewsky[39]) nachweist. Freilich hat er festgestellt, daß diese Erscheinung nur vorübergehend ist, damit der Phosphor leichter in die Wachstumszentren gelangen kann, wo er wieder als organisch gebundene Phosphorsäure angelagert wird. Mithin müßte im Malz organisch und anorganisch gebundene Phosphorsäure vorhanden sein, da der Keimprozeß durch das Darren unterbrochen ist.

Die Tatsache, daß anorganische Phosphorsäure im Malz vorkommt, ist nun von allergrößter Wichtigkeit. Denn wie Fernbach nachgewiesen hat, wird die schädigende Wirkung der Karbonate im Brauwasser auf die Diastasewirkung im Malz darauf zurückgeführt, daß sie die primärsauren Phosphate neutralisieren zu sekundären Phosphaten, die hemmend auf die Amylasewirkung des Malzes wirken, während die primären Phosphate diese beschleunigen.

Die Gründe hierfür, auf die ich im folgenden noch eingehen werde, hat Prior in seinem Werke[40]) zu ermitteln versucht.

Sodann ist die Wirkung der Phosphate auf die Gärtätigkeit zu erwähnen.

Harden und Young[41]) haben diesen Einfluß eingehend untersucht und dabei gefunden, daß die Vergärung von einfachen Zuckern mittels Hefepreßsaft durch Phosphate zeitweilig beschleunigt wird, indem die Phosphate folgendermaßen in die Reaktion eingreifen:

$$2\,C_6H_{12}O_6 + 2\,K_2HPO_4 = 2\,CO_2 + 2\,C_2H_6O + 2\,H_2O + C_6H_{10}O_4(PO_4K_2)_2.$$

Diese Phosphorsäureverbindung, die als Salz einer Hexosephosphorsäure anzusehen ist, wird durch ein Enzym, die Phosphatase, unter Hydrolysierung wie folgt zerlegt:

$$C_6H_{10}O_4(PO_4K_2)_2 + 2\,H_2O = C_6H_{12}O_6 + 2\,K_2HPO_4.$$

Die beiden Produkte treten wieder nach der ersten Gleichung in Reaktion, bis aller Zucker vergoren ist und das Phosphat zurückbleibt.

Zu ähnlichen Resultaten ist Iwanoff gekommen[42]), doch hält er die dabei auftretende Phosphorsäureverbindung für eine Triosephosphorsäure.

Wie weit nun die organischen Säuren imstande sind, den sauren Charakter der Phos-

37) Bull. of the College of Agriculture, Tokyo, Imper. University.

38) Biochemische Zeitschrift 1911, Bd. 30, S. 56 ff.

39) Kochs Jahresbericht 1906, S. 596.

40) Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres.

41) Proc. of the Roy. Soc. 1908, Bd. LXXX, S. 299 ff.

42) Zeitschrift für physikalische Chemie 1906, Bd. 50 S. 281.

phate zu ändern, darüber liegen folgende Untersuchungen vor.

Fernbach hat sich mit diesen Fragen beschäftigt und festgestellt, daß die unlöslichen tertiären Phosphate, die sich durch die Spaltung der Inositphosphorsäure bilden, durch die organischen Säuren in lösliche sekundäre und primäre Phosphate übergeführt werden, soweit sie in wässeriger Lösung überhaupt beständig sind.

Derselbe Forscher[43]) hat kürzlich erst nachgewiesen, daß die von Kjeldahl zuerst beobachtete Erhöhung der Maltoseausbeute durch Zusatz von Säure insofern mit der Umsetzung der sekundären und primären Phosphate in der Würze in Zusammenhang steht, daß die Säuremenge, die notwendig ist, um die vorhandenen sekundären Phosphate in primäre umzuwandeln, zugleich das Optimum an Säurezusatz für die Ausbeute an Maltose bildet.

Prior[44]) weist auf die Wichtigkeit der Phosphate für den Gehalt an freier organischer Säure hin und auf ihren Einfluß auf die Azidität des Malzes, der Würze und des Bieres. Die einzelnen Phasen, in denen die Phosphate auftreten und in die Reaktionen bei den verschiedenen Prozessen eingreifen, glaubt er folgendermaßen erklären zu dürfen.

Während des Wachstums des Malzes wird das aus der Spaltung des Phytins durch die Phytase hervorgehende tertiäre Phosphat, das zu einem bedeutenden Teil aus K_3PO_4 besteht, durch die Säuren, die der Keimling durch gebildete Azidasen entstehen läßt, vermehrt um die sauren Produkte der überall gleichzeitig auftretenden Bakterientätigkeit in saure Phosphate übergeführt. Die Umsetzung findet sogar noch auf der Schwelke statt. Unter Schwelke versteht der Brauer folgende Behandlung des Grünmalzes:

Das fertig gekeimte Grünmalz wird, bevor es auf die Darre gebracht wird, noch 24 Stunden ausgebreitet in luftigem Raum zur Nachreife sich selbst überlassen.

Das zur Verarbeitung gelangende Malz ist also verhältnismäßig reich an organischen Säuren und sauren Phosphaten. Beim Maischen werden die organischen Säuren durch die im Maischwasser vorhandenen Kalzium- und Magnesiumkarbonate neutralisiert, etwa wie folgt:

$$Ca\,CO_3 + 2\,(C_2H_4(OH)\,COOH) = \begin{matrix} C_2H_4(OH)\,COO \\ C_2H_4(OH)\,COO \end{matrix} Ca + H_2O + CO_2$$

Wird nun im Verlaufe des Maischprozesses die Maische gekocht, so ist eine Zunahme an Säure feststellbar, die sich so erklären läßt:

$$KH_2\,PO_4 + \begin{matrix} C_2H_4(OH)\,COO \\ C_2H_4(OH)\,COO \end{matrix} Ca = KCa\,PO_4 + C_2H_4(OH)\,COOH$$

Dazu kommt noch die relative Zunahme infolge des Einkochens.

Freilich kann namentlich bei bestimmten Temperaturen auch die entgegengesetzte Erscheinung eintreten, daß nämlich die Säure abnimmt, eine Folge der Verflüchtigung einzelner Säuren und folgender Umsetzungen:

$$\begin{matrix} CH_3\,COO \\ CH_3\,COO \end{matrix} Ca + 2\,KH_2\,PO_4 = K_2\,HPO_4 + Ca\,HPO_4 + 2\,CH_3\,COOH$$

und

$$Ca_3(PO_4)_2 + 2\,C_2H_4(OH)\,COOH = 2\,(Ca\,HPO_4) + \begin{matrix} C_2H_4(OH)\,COO \\ C_2H_4(OH)\,COO \end{matrix} Ca$$

Es ist hieraus ersichtlich, daß die Mitwirkung der Phosphate sehr mannigfach sein kann, ohne indes notwendig in dieser Weise vor sich gehen zu müssen; vielmehr spielen hier auch noch folgende Tatsachen eine nicht zu unterschätzende Bedeutung.

W. Windisch hat vor kurzem festgestellt, daß für $CaSO_4$, $MgSO_4$ und $CaCl_2$ folgende Umsetzungsmöglichkeiten bestehen, die, wie eingehende Untersuchungen, die ich

43) Annales de Brasserie 1911, S. 207.
44) Chemie und Physiologie 1895.

selbst ausführte, erkennen lassen, ohne Frage eine große Bedeutung für die Säurebildung und somit für die Azidität, namentlich auch der Würze, haben:

$$3\,CaSO_4 + 4\,K_2HPO_4 = Ca_3(PO_4)_2 + 3\,K_2SO_4 + 2\,KH_2PO_4$$

oder

$$3\,CaCl_2 + 4\,K_2HPO_4 = Ca_3(PO_4)_2 + 2\,KH_2PO_4 + 2\,KCl.$$

Für $MgSO_4$ liegen die Verhältnisse ähnlich wie für $CaSO_4$.

Es ergibt sich also in allen Fällen eine Bildung von KH_2PO_4, das seinerseits wieder eine Reizwirkung auf die Enzyme ausübt. Bekannt ist ja, daß ein Zusatz von $CaSO_4$ sowohl wie von $MgSO_4$ zum Maischwasser eine Beschleunigung der Verzuckerung einer Würze bewirkt, schon gegenüber einer Würze, die mit destilliertem Wasser hergestellt ist. Daß eine derartige Wirkung auch auf die Phytase z. B. angenommen werden kann, ist sehr wahrscheinlich. Andererseits aber kann ein Zuviel an $CaSO_4$, $MgSO_4$ und $CaCl_2$ wieder schädigend wirken; bekanntlich besteht für die Azidität ein Optimum, über das hinaus schnell eine schädigende Wirkung statt der fördernden sich bemerkbar macht. Die Frage, ob diese Zunahme der Azidität auf die Koagulierung der Eiweißkörper, die an sich bei der Würzebereitung koagulieren und deren Entfernung für die Verbesserung des Geschmacks des herzustellenden Bieres wertvoll ist, beschleunigend wirkt und sie vollständiger entfernen hilft, hat bisher nicht geprüft werden können. Doch möchte ich auf die grundlegenden Arbeiten von Sörensen[45]) hinweisen.

Um ganz allgemein das Verhalten der organischen Säuren gegenüber den zwei- und dreibasischen Phosphaten noch näher zu ergründen, stellte ich folgenden Versuch an:

Ich gab zu einer Auflösung von 1,74 g K_2HPO_4 eine Lösung von Milchsäure, die 1,8 g Milchsäure enthielt, und ätherte das Gemisch im Perforator aus. Nach 24stündigem Ausäthern ergab sich ein Gehalt an freier Milchsäure von 0,9194 g, der nicht durch Kalium gebunden war, so daß also 0,8806 g Milchsäure gebunden waren.

Um beide K-Atome des K_2HPO_4 zu binden, hätte ich für die angewandte Menge K_2HPO_4 1,858 g Milchsäure verbraucht, tatsächlich verbraucht sind aber nur 0,8806 g. Für 1 Kalium wären 0,929 g Milchsäure notwendig gewesen, also sind 0,0484 g Milchsäure zu wenig gebraucht, um ein 1 K zu binden. Diese Differenz dürfte sich daher erklären, daß die angewandte Milchsäuremenge titrimetrisch bestimmt war, während die zurückgewonnene aus dem Bariumgehalt berechnet wurde, nachdem sie in Bariumlaktat übergeführt war, und daß die durch die Titration erhaltenen Werte mit denen auf gewichtsanalytischem Wege gefundenen leicht Differenzen ergeben.

Der Versuch bestätigt aber jedenfalls, daß die Milchsäure tatsächlich stark genug ist, um K_2HPO_4 in KH_2PO_4 überzuführen, so daß nach dieser Richtung hin die von Prior aufgestellte Behauptung, daß in der Würze und im Bier KH_2PO_4 vorhanden ist, zu Recht besteht.

Aus allen diesen Tatsachen ergeben sich ganz neue Gesichtspunkte für die Kenntnis der Wirksamkeit der im Brauwasser gelösten Salze.

Nicht zum wenigsten wird daraus aber auch klar, weshalb ein zu großer Gipsgehalt des Brauwassers schädigend auf das herzustellende Bier wirkt; denn eine zu starke Entfernung der Phosphorsäure kann unmöglich vorteilhaft sein, wird doch der Hefe ein wichtiger Baustein entrissen und außerdem das für eine gute, kräftige Gärung erforderliche Optimum an Säure überschritten, wie denn auch schon beim Maischprozeß das Überschreiten eines gewissen Säureoptimums die Tätigkeit der Enzyme ganz auffällig hemmt.

Alle diese Versuche und Überlegungen ergeben die überaus große Wichtigkeit der

45) Biochemische Zeitschrift Bd. VII.

Phosphorsäure bei der Bierbereitung. Ein Teil der vorher erläuterten Vorgänge setzt zweifelsohne schon bei dem Mälzen ein, so daß man sagen kann, daß die Phosphorsäure vom Augenblick des Mälzens an bis zur beendeten Gärung bei jeder einzelnen Stufe der Bierbereitung einschneidend den Chemismus beeinflußt und nach jeder Richtung hin ausgleichend wirkt.

Titration.

Zum Schluß meiner Ausführungen möchte ich noch auf die Titration der Würze und des Bieres nach den heute gebräuchlichen Methoden, wie auch ich sie angewandt habe, zu sprechen kommen.

Während nämlich die gebräuchlicheren Indikatoren, z. B. Lackmus, Rosolsäure, Phenolphthalein, Methylorange, Alizarin gegen eine anorganische Säure oder eine einfache Base ziemlich gleichmäßig reagieren, zeigen sich schon bei der Titration einer organischen Säure mit einer Lauge beträchtliche Unterschiede. Fällt die Bestimmung des Neutralisationspunktes bei Lackmus sehr schwer, d. h. sind die auftretenden Übergangsfarben so unrein, daß man den Umschlag nicht genau festlegen kann, so ist dieser bei Rosolsäure wie auch bei Phenolphthalein im Gegenteil mit Leichtigkeit zu erkennen. Methylorange dagegen ist, namentlich gegen die schwächeren organischen Säuren, in größerer Verdünnung unempfindlich, so daß die Neutralisation einer Base mit einer organischen Säure gegen diesen Indikator erst bei einem sehr großen Überschuß an Säure eintritt.

Noch deutlicher treten diese Unterschiede hervor, wenn man das Salz einer organischen Säure auf seine Neutralität gegen die vier Indikatoren Lackmus, Rosolsäure, Phenolphthalein und Methylorange prüft.

50 ccm einer 5prozentigen Lösung von Ammonlaktat (Kahlbaum) wurden mit n/10-Natronlauge titriert. Diese Lösung gebrauchte gegen Lackmus 2,5 ccm Lauge zur Neutralisation. Auch gegen einen alkoholischen Rotkohlauszug, der nach L. E. Walbum[46]) sich als Indikator gut eignet, namentlich wo es sich darum handelt, neben Azidalbuminen und genuinen Albuminen, die auf andere Indikatoren nicht ohne Einfluß sind, die Wasserstoffionenkonzentration festzustellen, betrug der Verbrauch an Lauge etwa 3,0 ccm. Gegen Phenolphthalein und Rosolsäure wurden 23,5 ccm Lauge verbraucht, während Methylorange erst nach Zusatz von 45,0 ccm n/10-Salzsäure Neutralität anzeigte. Dieses eigenartige Verhalten von organischen Salzen, für das ich bisher keine Erklärung finden konnte, das ich aber auch bei selbst sorgfältigst bereitetem Kaliumbutyrat feststellen konnte, hielt ich für interessant genug, um es zu erwähnen, zumal da man in der Würze und noch mehr im Bier mit der Anwesenheit solcher Salze rechnen muß. Diese Erscheinung ist sicherlich von größter Bedeutung für die Titration der genannten Flüssigkeiten und dürfte ein wenig die verworrenen Verhältnisse, wie sie bei der Titration der Würzen und Biere herrschen, je nachdem man Lackmus oder Phenophthalein anwendet, erklären.

Das Vorhandensein organischer Kaliumsalze in der Würze und im Bier geht schon aus den früheren Ausführungen hervor.

Aber auch Ammoniumsalze sind vorhanden, denn wie Ehrlich[47]) nachgewiesen hat, werden die Aminosäuren durch die Hefen abgebaut, und unter den Endprodukten findet sich Ammoniak; z. B. ergibt Leucin bei der Gärung Furfurol, Kohlendioxyd und Ammoniak.

So ergeben sich also für die Titration einer Würze und eines Bieres folgende Tatsachen:

Die Titration gegen Lackmus mit Lauge zeigt den Gehalt an freier Säure, ver-

46) Biochemische Zeitschrift 1913, Bd. 48, Heft 4, S. 291.

47) Zeitschrift für Zuckerindustrie.

mehrt um den Gehalt an KH_2PO_4 bzw. ähnlich reagierenden, einbasischen Phospaten, an. Dazu kommt noch der Einfluß der organischen Salze in Betracht, der freilich nicht wesentlich das Resultat beeinflußt.

Die Titration gegen Phenolphthalein[48]) zeigt den Gehalt an freien Säuren, vermehrt um den Gehalt an KH_2PO_4, an. Außerdem werden die organischen Salze und Azidalbumine als sauer reagierend mitbestimmt.

Methylorange als Indikator schließlich zeigt nicht nur den Gehalt an drei- und zweibasischen Phosphaten, sondern auch an organischen Salzen an.

Wenn also Prior in seinem Buche: „Chemie und Physiologie des Malzes" bei der Bestimmung der einzelnen Säuren in Würze und Bier angibt (wie es auch bis in die neueste Zeit immer wieder verlangt wird), man solle nicht gegen Lackmus, sondern gegen „rotes Phenolphthalein" titrieren, so ergibt sich aus vorstehendem, daß da zuviel als „Säure" bestimmt wird (Gesamtazidität). Daher erklären sich auch alle die Unstimmigkeiten in der Ausführung und den Resultaten der Titrationen der einzelnen Forscher. Gerade auch in allerneuester Zeit wieder hat man versucht, die Titration gegen Phenolphthalein als die brauchbarste hinzustellen[49]).

Es wird hier sogar eine neue Methode angegeben. Denn während Prior[50]) die Tüpfelmethode angibt, die so ausgeführt wird, daß man eine wässerige Phenophthaleinlösung mit einer Spur Lauge versetzt und davon auf eine Porzellanplatte, die mehrere Vertiefungen trägt, jeweils einen Tropfen gibt, gegen den man probiert, ob die zu titrierende Flüssigkeit schon alkalisch ist oder nicht, schlägt Moufang vor, das Bier oder die Würze auf das zehnfache Volumen zu verdünnen und dann unter Zusatz von Phenolphthalein direkt zu titrieren. Abgesehen davon, daß letztere Methode nur für sehr lichte Biere anwendbar ist, wodurch der allgemeine Gebrauch sehr beschränkt wird, hat sie höchstens den Vorzug der Bequemlichkeit. Denn die Fehler bleiben zum mindesten dieselben, wie bei der Priorschen Methode, wenn nicht gar durch die große Verdünnung noch weitere Ungenauigkeiten verursacht werden.

Aber noch eine weitere Ungenauigkeit liegt in den Angaben Priors. Wenn zur Bestimmung der primären Phosphate in Würze oder Bier die Titration des Rückstandes nach Entfernung aller organischen Säuren mit Phenolphthalein angewandt werden soll, so ist nach obigem leicht ersichtlich, daß neben den primären Phosphaten noch die organischen Salze der Alkalien und der Ammoniaks titriert werden, so daß der erhaltene Wert zum mindesten zu hoch erscheint.

Ich bin daher entschieden der Ansicht, daß die Titration gegen Lackmus trotz ihrer Ungenauigkeiten noch das beste Bild von der „Azidität" einer Würze und eines Bieres gibt, zumal der erwähnte Rotkohlindikator fast genau dieselben Zahlen ergibt.

Auch auf eine andere Ungenauigkeit möchte ich noch im Anschluß hieran hinweisen.

Fernbach hat hingewiesen, wie oben erwähnt, daß die Säuremenge, die notwendig ist, um die sekundären Phosphate in primäre überzuführen, das Optimum darstellt für die Maltoseausbeute in einer Maische. Diesen Zustand des Säuregehaltes bzw. der beendeten Umwandlung der sekundären und primären Phosphate stellt Fernbach fest durch die Titration gegen Methylorange. Da aber, wie oben ausgeführt, die Titration gegen Methylorange neben der Umwandlung des sekundären und des primären Phosphates noch die Menge an organischen Säuren gebundener Alkalien anzeigt, so muß die Erklärung dahin erweitert werden, daß außer der Umwandlung der sekundären Phosphate in primäre noch ein Freimachen der organischen

48) Rosolsäure verhält sich wie Phenolphtalein.

49) Moufang, Wochenschrift für Brauerei 1910, Nr. 30.

50) Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres.

Säuren notwendig ist, um das Optimum für die Maltoseausbeute zu erreichen.

Es ergeben sich also aus diesen Betrachtungen folgende Schlußfolgerungen:

1. Die Phosphorsäure spielt bei der Malz- sowohl wie bei der Bierbereitung eine ganz besondere Rolle:

   Bei der Keimung des Malzes schon dient sie als Brücke für den Aufbau des neuen Pflänzchens.

   Beim Maischen wirkt sie vernichtend auf die schädigende Wirkung der Karbonate, ermöglicht eine Verbesserung der Azidität durch Gipszusatz und bildet auch hier ein Bindeglied für die Umsetzungen zwischen den organischen Säuren und anorganischen Salzen.

   Bei der Gärung bildet sie ebenfalls eine Brücke für den Zuckerabbau, dient somit als Katalysator in weiterem Sinne.
2. Die Titration der Würze oder des Bieres ist von soviel Einzelheiten abhängig, daß es nicht möglich ist, ohne weiteres direkte Schlüsse aus den erhaltenen Werten auf den Gehalt an Säuren oder Salzen zu ziehen. Die Titration gegen Lackmus ergibt insofern das dem wahren Gehalt an freier Säure und primären Phosphaten am nächsten kommende Bild, als dieser Indikator am wenigsten durch organische Salze beeinflußt wird.

Experimenteller Teil.

I. Vorbereitende Versuche.

Wie ich im ersten Teil dieser Arbeit schon andeutete, bereitete die Beschaffung eines geeigneten Extraktionsapparates anfänglich Schwierigkeiten. Die ungenügende Wirkungsweise des Schacherlschen Apparates bei Anwendung größerer Flüssigkeitsmengen geht aus nachfolgenden Daten zur Genüge hervor.

1. Angewandte Substanz:
   Milchsäure=34,7 ccm n/10 Natronlauge = 0,312 g.
   Extraktionsdauer: 18 Stunden.
   Extrakt verbrauchte 13,4 ccm n/10 Natronlauge = 0,1203 g Milchsäure.
   Extrahiert sind **38,62** pCt. der angewandten Menge.

2. Milchsäure=35,3 ccm n/10 Natronlauge = 0,3177 g. Dazu 10 ccm eines Gemisches von Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure = 10 ccm = 21,65 ccm n/10 Natronlauge.
   Extraktionsdauer: 30 Stunden.
   Der Extrakt verbrauchte 24,8 ccm n/10 Natronlauge = 0,223 g.
   Extrahiert sind **43,55** pCt. der angewandten Menge.

3. 10 ccm Milchsäure = 36,9 n/10 Natronlauge = 0,3321 g.
   Extraktionsdauer: 36 Stunden.
   Der Extrakt verbrauchte 26,9 ccm n/10 Natronlauge = 0,2421 g.
   Extrahiert sind: **73,44** pCt. der angewandten Menge.

4. 10 ccm flüchte Säuren (Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure=21,65 ccm n/10 Natronlauge.
   Extraktionsdauer: 36 Stunden.
   Der Extrakt verbrauchte: 2,05 ccm n/10 Natronlauge.
   Extrahiert sind: **9,26** pCt. der angewandten Menge.

Anschließend lasse ich das Ergebnis eines Versuches mit dem nach dem Schacherlschen Extraktionsapparat selbst konstruierten Apparat als Beleg dafür folgen, daß auch dieser nicht hinreichend genau arbeitete.

10 ccm Milchsäure = 9,1 ccm n/10 Natronlauge = 0,0820 g.
Extraktionsdauer: 18 Stunden.
Der Extrakt verbrauchte: 4,7 ccm n/10 Natronlauge = 0,0427 g.
Extrahiert sind: **51,65** pCt. der angewandten Menge.

Schließlich führe ich noch einige Ergebnisse von Extraktionsversuchen mit wässerigen Säurelösungen mittels des nach eigenen Angaben umgeänderten Perforators nach Partheil-Rose an.

1. 10 ccm Milchsäure = 9,1 ccm n/10 Natronlauge = 0,0819 g.
   Extraktionsdauer: 24 Stunden.

Der Extrakt verbrauchte: 8,75 ccm n/10 Natronlauge = 0,0787 g.
Extrahiert sind: 96,25 pCt.

2. 10 ccm Milchsäurelösung = 2,41 ccm n/10 Natronlauge = 0,0216 g.
Extraktionsdauer: 18 Stunden.
Der Extrakt verbrauchte: 2,29 ccm n/10 Natronlauge.
Extrahiert sind: **94,98** pCt. der angewandten Menge.

3. 10 ccm Milchsäurelösung = 2,4 ccm n/10 Natronlauge = 0,0216 g.
Das Gemisch wurde mit 3 ccm ca n/10 Phosphorsäure angesäuert, um die Löslichkeit der Milchsäure im Wasser zugunsten der in Äther zurückzusetzen.
Der Extrakt verbrauchte: 2,3 ccm n/10 Natronlauge = 0,0207 g.
Extrahiert sind: **95,85** pCt. der angewandten Menge.

Wenngleich auch diese Versuche keine absoluten Zahlenwerte ergaben, so sind diese doch so gleichmäßig, daß ich wohl glaubte, sie als ausreichend ansehen zu dürfen, um darauf einen Analysengang aufzubauen.

Um indes sicher zu gehen, habe ich eine große Zahl Testversuche mit Flüssigkeiten angestellt, wie ich sie späterhin zu untersuchen hatte.

Aus der großen Reihe dieser Versuche lasse ich nachfolgend eine Anzahl folgen. Ich habe die Ergebnisse für Würze, Schlauchbier und Lagerbier in je einer Tabelle aufgeführt und zugleich die Parallelversuche, die stets mit zwei verschiedenen Apparaten ausgeführt wurden, nebeneinander gestellt.

Tabelle I. Würzen.

Versuch Nr.	Freie Säuren in 200 ccm Würze.				Gebundene Säuren in 200 ccm Würze.			
			Kontrollversuche				Kontrollversuche	
	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Würze	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Würze	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Würze	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Würze
I	1,83	**0,90**	1,65	**0,83**	4,78	**2,39**	4,85	**2,42**
II	1,25	**0,63**	1,45	**0,73**	9,65	**4,82**	9,35	**4,68**
III	1,10	**0,55**	1,25	**0,63**	8,90	**4,45**	8,65	**4,33**

Tabelle II. Schlauchbiere.

Versuch Nr.	Freie Säuren in 200 ccm Schlauchbier.				Gebundene Säuren in 200 ccm Schlauchbier.			
			Kontrollversuche				Kontrollversuche	
	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier
I	7,25	**3,63**	7,5	**3,73**	6,75	**3,38**	6,60	**3,30**
II	5,5	**2,73**	5,35	**2,68**	8,5	**4,25**	8,5	**4,25**
III	8,78	**4,39**	9,1	**4,55**	14,0	**7,00**	12,73	**6,36**

Tabelle III. Fertige Biere.

Versuch Nr.	Freie Säuren in 200 ccm Lagerbier.				Gebundene Säuren in 200 ccm Lagerbier			
			Kontrollversuche				Kontrollversuche	
	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier	n/10 Natronlauge ccm	in 100 ccm Bier
I	8,2	**4,10**	8,3	**4,15**	11,6	**5,80**	11,3	**5,65**
II	6,85	**3,43**	6,8	**3,40**	7,9	**3,95**	7,95	**3,98**
III	6,58	**3,29**	6,73	**3,36**	12,8	**6,40**	11,75	**5,90**

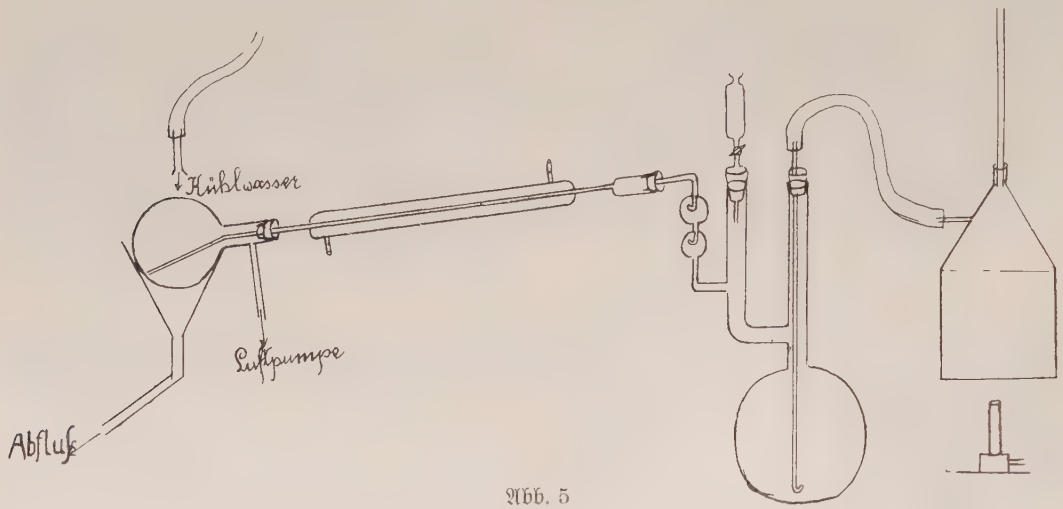


Abb. 5

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, das die Extraktion in diesen Apparaten so vollkommen war, daß die in gleicher Zeit in zwei Apparaten aus derselben Flüssigkeit extrahierten Säurenmengen gut übereinstimmten.

Um nun auch die Leistungsfähigkeit der Dampfdestillationsmethode nach Welde zu prüfen, stellte ich folgende Versuche an.

1. 10 ccm eines Gemisches von Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure zu gleichen Teilen: verbrauchten 21,65 ccm n/10 Natronlauge.

   Nach $1^1/_2$ Stunden konnten zurücktitriert werden: 16,90 ccm n/10 Natronlauge + 2,30 ccm für die vorgelegte Natronlauge = 19,20 ccm n/10 Natronlauge, nach 3 Stunden = in Summa 22,10 ccm n/10 Natronlauge = 2,08 pCt. zuviel.

Da die vorgelegte Natronlauge schon nach $1^1/_2$ Stunden 2,30 ccm n/10 Schwefelsäure zu wenig verbrauchte, d. h. 2,30 ccm n/10 Säure aus dem Apparat verbraucht war, die aber, wie das Aufschäumen bewies, zum Teil aus Kohlensäure bestand, so wurde versucht, die Vorlage durch bessere, rechtzeitige Kondensation zu ersetzen. Zu diesem Zwecke wurde zwischen den Fraktionierkolben und Vorlage ein langer ($^3/_4$ m) Liebig scher Kühler eingeschaltet, auch wurde das Destillat mittels

eines Rohransatzes am Kühlerrohr bis auf den Boden der Vorlage hinabgeführt, damit das Destillat sofort in dem destillierten Wasser, das absichtlich in die Vorlage gegeben war, gelöst wurde. Hierdurch wurde der Fehler, der durch die Bindung von CO_2 aus der Luft durch die vorgelegte Natronlauge hervorgerufen wurde, beseitigt und, wie die nachfolgenden Versuche zeigen, ein mindestens ebenso genaues, ja wohl wahrscheinlicheres Ergebnis erzielt.

Zuvor war jedoch versucht worden, ob mit den Wasserdämpfen in einem so hohen Vakuum nicht auch Teilchen von der zum Ansäuern benutzten n/10 Phosphorsäure mit übergerissen würden. Die Untersuchung des Destillates daraufhin ergab tatsächlich die Anwesenheit von Phosphorsäure, wenn auch nur in sehr geringen Mengen.

Um dieses Mitreißen von Phosphorsäure zu verhüten, ließ ich an dem Fraktionierkolben mit doppeltem Halse noch einen doppelten Ansatz, wie er in einfacher Form zur Stickstoffbestimmung nach Kiedahl benutzt wird, anbringen, und zwar so, daß die beiden Düsen nur einen ungefähren Durchmesser von $1^1/_2$—2 mm hatten. Diese Anordnung erwies sich als zweckentsprechend, denn in dem Destillat der im folgenden anzuführenden Versuche konnte Phosphorsäure mit Ammon-Molybdat nicht nachgewiesen werden.

1. Dasselbe Säuregemisch wie in Versuch 1.
   Nach vierstündiger Extraktion wurde die angewandte Säuremenge wiedergefunden, doch war die Temperatur des Wasserbades während des Versuchs auf 65° C. gestiegen.
3. Dasselbe Gemisch wie in Versuch 1.
   Nach drei Stunden zurücktitriert:
   19,7 ccm n/10 Natronlauge
   = 90,2 pCt.
4. 10 ccm Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Valeriansäure = 9,6 n/10 Natronlauge,

	n/10 Natronlauge
nach 2 Stunden in der Vorlage Säure = ...	6,1 ccm
nach 3 Stunden in der Vorlage Säure = ...	1,6 „
nach 4 Stunden in der Vorlage Säure = ...	1,1 „
nach 5 Stunden in der Vorlage Säure = ...	0,5 „
	9,3 ccm

   Wiedergefunden = 96,85 pCt.
5. Dasselbe Gemisch wie bei Versuch 4.

	n/10 Natronlauge
nach 1 Stunde in der Vorlage Säure = ...	5,9 ccm
nach 2 Stunden in der Vorlage Säure = ...	2 „
nach 3 Stunden in der Vorlage Säure = ...	3 „
nach $3^1/_2$ Stunden in der Vorlage Säure = . .	0,4 „
nach 4 Stunden in der Vorlage Säure = ...	0,2 „
	9,5 ccm

   Wiedergefunden = 96,94 pCt.
6. Dasselbe Gemisch wie bei Versuch 4.

	n/10 Natronlauge
Nach 2 Stunden in der Vorlage = ...	8,4 ccm
Nach 3 Stunden in der Vorlage = ...	9,7 „

   Wiedergefunden = 101,2 pCt.

Aus diesen Versuchen 2—6 geht hervor, daß, wie auch Welde angibt, eine hinreichend große Genauigkeit nach dieser neuen Methode erreichbar ist. Zwar spielen hierbei noch einige Nebenumstände eine gewisse Rolle, so die Erhöhung der Temperatur des Wasserbades, und ebenso die Öffnung der Dampfdüse, wie Windisch und Roettgen[51])

51) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 1911.

nachgewiesen haben, durch die Schwankungen in den Werten hervorgerufen werden. Die erste dieser Fehlerquellen ist jedoch bei einigermaßen konstantem Gasdruck in der Leitung und bei einiger Aufmerksamkeit wohl zu vermeiden, die zweite bleibt für jeden Apparat konstant, läßt sich für direkt zu vergleichende Versuche also völlig ausschalten, indem derselbe Apparat hierfür benutzt wird, doch können selbst die Differenzen zweier Apparate auf ein Minimum beschränkt werden, wie aus Versuchen hervorgeht, die mit Säureextrakten aus Bier ausgeführt sind, z. B.

1. Extrakt aus Würze aus zwei Apparaten.

I.
1,8 ccm n/10 Natronlauge
II.
1,85 „ n/10 Natronlauge

Davon flüchtige Säuren

I.
0,8 ccm n/10 Natronlauge
II.
0,75 „ n/10 „

2. Extrakt aus Würze

I.
12,3 ccm n/10 Natronlauge
II.
12,5 „ n/10 „

Flüchtige Säuren

I.
0,6 ccm n/10 Natronlauge
II.
0,55 „ n/10 „

Milchsäurebestimmung gewichtsanalytisch.

Zur quantitativen Bestimmung der Milchsäure wurden mehrere Methoden vorgeschlagen und noch mehr sind praktisch untersucht.

Wie schon im theoretischen Teil dieser Arbeit ausgeführt ist, ist die von Kunz[52]) angegebene Methode, die auf der Löslichkeit des Bariumsalzes der Milchsäure in 70 prozentigem Alkohol beruht, in dem bernsteinsaures Barium unlöslich ist, die wohl am einfachsten und sichersten auszuführende. Ich selbst habe Versuche mit einem Gemisch von bekanntem Gehalt an Milchsäure und Bernsteinsäure ausgeführt und mich von der Brauchbarkeit überzeugt. Dabei fiel mir auf, daß, wenn ich nach der Angabe von Kunz das milchsaure Barium mit Salzsäure zersetzte und das freigewordene Barium mit Natriumsulfat fällte, ich regelmäßig zu hohe Werte für Milchsäure erhielt.

Diese Erscheinung war mir früher schon gerade bei Fällungen von Bariumsulfat aufgefallen, daß nämlich die Bestimmungen wesentlich genauer wurden, wenn man dafür sorgte, daß möglichst geringe Mengen von Alkalisalzen zugegen waren. Auf diese Erfahrung hin versuchte ich, die Bestimmung der Milchsäure als Bariumsulfat ohne Zusatz von Natrium; und die gefundenen Werte wiesen eine bedeutend größere Genauigkeit auf.

Beispiel:

Milchsäure, die mit n/10 Natronlauge titriert war, wurde mit Bariumhydroxyd versetzt, die Salzlösung erwärmt, nach einer halben Stunde das überschüssige Bariumhydroxyd durch Einleiten von Kohlensäure ausgefällt und das Ganze zur Trockne eingedampft. Alsdann wurde der Rückstand mit 50 ccm Wasser aufgenommen und mit 98 pCt. Alkohol auf 150 ccm aufgefüllt. Die Lösung wurde durch ein quantitatives Filter gegossen, das Filter fünfmal mit 65 pCt. Alkohol ausgewaschen, das Filtrat nach dem Erwärmen auf dem Wasserbade mit Salzsäure zersetzt und das freigewordene Barium mittels Na_2SO_4 als $BaSO_4$ gefällt:

52) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 1901.

I. 10 ccm Milchsäurelösung = 2,25 ccm n/10 Natronlauge
= 0,0203 g Milchsäure.

Nach der Fällung als $BaSO_4$

Tiegel und Niederschlag 22,2873 g
Tiegel leer . . . . . 22,2522 g
0,0351 g $BaSO_4$
= 0,0271 g Milchsäure

gefundene 0,0271 g
angewandte 0,0203 g
0,0068 g Milchsäure zuviel.

II. 10 ccm Milchsäurelösung entsprechend 13,15 ccm n/10 Natronlauge + 10 ccm Bernsteinsäure entsprechend 5,8 ccm n/10 Natronlauge wurden mit Bariumhydroxyd versetzt und, wie oben beschrieben, nach dem Eindampfen mit 65 pCt. Alkohol gefällt. Es entstand ein dickflockiger Niederschlag von Bariumsuccinat, der abfiltriert wurde. Im Filtrat wurde durch Zusatz von Natriumsulfat das an Milchsäure gebundene Barium gefällt und zur Wägung gebracht.

Tiegel und Niederschlag 22,4287 g
Tiegel leer . . . . . 22,2634 g
0,1653 g $BaSO_4$
= 0,1277 g Milchsäure

angewandte . . . . . 0,1184 g
wiedergefundene . . . . . 0,1277 g
= zuviel 7,8 pCt.

III. 10 ccm Milchsäurelösung = 2,5 ccm n/10 $Ba(OH)_2$ = 0,0225 g
10 ccm Bernsteinsäure = 2,25 ccm n/10 $Ba(OH)_2$ = 0,0133 g
wurden zusammengegeben und mit 65 prozentigem Alkohol behandelt. Nach dem Abfiltrieren des Niederschlages von Bariumsuccinat wurde das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert und das ausgefallene Bariumsulfat als solches geglüht und zur Wägung gebracht.

Tiegel und Niederschlag 14,4574 g
Tiegel leer . . . . 14,4290 g
0,0284 g $BaSO_4$
= 0,0219 g Milchsäure

angewandt 0,0225 g
gefunden . 0,0219 g
0,0006 g zu wenig = 3 pCt.

IIIa. Der Niederschlag, bestehend aus Bariumsuccinat, wurde vom Filter mit Salzsäure gelöst und in der Lösung das Barium mit Schwefelsäure gefällt und als Bariumsulfat geglüht und gewogen.

Tiegel und Niederschlag . . . . = 13,5612 g
Tiegel leer . . . = 13,5348 g
0,0264 g $BaSO_4$
= 0,0134 g Bernsteinsäure

angewandt 0,0133 g
gefunden . 0,0134 g
0,0001 g zuviel = 0,8 pCt.

IV. 10 ccm Milchsäurelösung . . = 10,6 ccm n/10 $Ba(OH)_2$
10 „ Bernsteinsäurelösung = 7,6 „
wie vorher behandelt und bestimmt:
Milchsäure:

Tiegel und Niederschlag . . . . = 13,6600 g
Tiegel leer . . . = 13,5348 g
0,1252 g $BaSO_4$
= 0,0967 g Milchsäure

angewandt 0,0954 g
gefunden . 0,0967 g
0,0013 g zuviel = 1,4 pCt.

IVa. Bernsteinsäure

Tiegel und Niederschlag . . . . = 14,5180 g
Tiegel leer . . . . = 14,4290 g
0,0890 g $BaSO_4$
= 0,0450 g Bernsteinsäure
angewandt 0,0448 g
gefunden . 0,0450 g
0,0002 g zuviel = 0,4 pCt.

Diese Werte dürften für die Genauigkeit der gewichtsanalytischen Bestimmung der Milchsäure wohl ein weiterer Beleg sein und die von Kunz[53]) gemachten Angaben für die Trennung von Milchsäure und Bernsteinsäure bestätigen.

Extraktion der Säuren.

Die Bestimmung der freien und der gebundenen Säuren in Würze und Bier erschien mir nur durch die Extraktion mit einem für die übrigen in diesen Flüssigkeiten gelösten Stoffe möglichst schlechten Lösungsmittel ausführbar. Zu diesem Zwecke schien mir der gewöhnliche Äthyläther am geeignetsten, da er erstens leicht in gleichmäßig guter, säurefreier Beschaffenheit zu haben ist und zweitens für die in Betracht kommenden organischen Säuren ein leidlich gutes Lösungsmittel ist. Ich habe freilich auch einige Extraktionsversuche mit niedrig siedendem Petroläther (0,64 bis 0,65 spezifisches Gewicht) ausgeführt, doch bleiben die gewonnenen Extrakte hinsichtlich der Menge hinter den Ätherextrakten stark zurück, ein Unterschied, der nicht etwa auf weniger gelöstes Harz des Hopfens hätte zurückgeführt werden können; auch war trotz aller Vorsichtsmaßregeln ein bedeutender Verlust an Petroläther durch Verdunsten nicht zu vermeiden, so daß die Extraktionsapparate häufig nachgefüllt werden mußten.

Da außerdem in den meisten bisher ausgeführten eingehenden Untersuchungen des Weins auf Säuren auf die Ätherextraktion zurückgegriffen ist, so glaubte ich auch den Äther zu meinen Untersuchungen benutzen zu dürfen.

Eine andere Bestimmungsmethode war unmöglich anwendbar, da ich in die natürliche Zusammensetzung der zu untersuchenden Flüssigkeiten in keiner Weise verändernd eingreifen durfte, weil ich sonst das Verhältnis zwischen den freien und den gebundenen Säuren sicherlich geändert hätte, auf dessen Festlegung es mir hauptsächlich ankam.

Analysengang.

Nachdem sich so die Zerlegung der organischen Säuren, die in Betracht kommen, in einzelne Gruppen als möglich erwiesen hatte und ein brauchbarer Analysengang gefunden war, möchte ich der Übersicht wegen kurz noch einmal den eingehaltenen Weg festlegen.

Je nach der Größe des zur Verfügung stehenden Extraktionsapparates — ich arbeitete mit vier Apparaten, von denen einer 500 ccm Inhalt hatte, einer 300 ccm und zwei 200 ccm — wurden 500, 300 oder 200 ccm Bier oder Würze mit annähernd der gleichen Menge absolut säurefreien Äthers, der gegen Lackmus, Rosolsäure und Methylorange neutral reagierte, übergossen und zunächst durchgeschüttelt. Die sich dabei regelmäßig stärker oder schwächer bildende Emulsion wurde je nach der angewandten Flüssigkeitsmenge mit 40—60 ccm Methylalkohol beseitigt.

Neben der Verhinderung einer Emulsion zwischen Äther und Bier bzw. Würze wurde das Ausäthern von dextrinartigen Körpern

53) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. 1901.

wesentlich herabgemindert, die, wie Kunz[54]) angibt und v. d. Heiden und Steiner[55]) bestätigen, durch Spaltung mittels Bariumhydroxyd Milchsäure geben und so das Resultat beeinflussen. Das Gemisch wurde dann mittels Trichter in den Extraktions-Apparat gegeben und darin 48 Stunden (bei dem 500 ccm Extraktions-Apparat 60 Stunden) extrahiert. Der gewonnene Extrakt wurde mitsamt dem Äther unter Zusatz von Rosolsäure als Indikator (bereitet nach Glaser „Indikatoren" durch Auflösen von 2,0 g käuflicher Rosolsäure in 50 ccm Alkohol, dem nachher noch 50 ccm Alkohol zugesetzt wurde) mit einer etwa n/10 Barytlauge titriert. Die Neutralisation war leicht daran zu erkennen, daß die Rosolsäure selbst im Äther löslich ist, während ihre Salze wie alle Salze organischer Säuren ätherunlöslich sind, so daß vollständige Entfärbung des Äthers die Neutralisation anzeigte. Außerdem wurde zum Verseifen etwa vorhandener Laktylmilchsäure und anwesenden Laktids ein Überschuß von 1 bis 2 ccm $Ba(OH)_2$ hinzugegeben. Sodann wurde der Äther auf einem elektrischen Ofen abdestilliert und der Rückstand bis zur Vertreibung des gelösten Alkohols nach Zusatz von einigen Kubikzentimetern Wassers erwärmt.

Nach dem Abkühlen wurde die überschüssige Barytlauge mit n/10 Schwefelsäure zurücktitriert. Ich nahm Bariumhydroxyd statt Natriumhydroxyd, weil, wie schon oben gesagt, ein ungünstiger Einfluß der Natriumsalze auf die nachfolgende Fällung des Bariumsulfats festgestellt war. Schwefelsäure wurde zum Zurücktitrieren genommen, um die überschüssigen Bariumsalze zu entfernen, was Salzsäure nicht getan hätte, die vielmehr infolge des gebildeten Bariumchlorids, das in Alkohol löslich ist, einen Fehler in den Analysengang gebracht hätte.

Sodann wurde der Extrakt in den vorher beschriebenen Destillierkolben des Dampfdestillationsapparates gegeben. Nach Zusatz einer etwa n/10 Phosphorsäurelösung, deren Menge etwa 25 pCt. größer war als die Anzahl zur Neutralisation des Extraktes verbrauchter Kubikzentimeter etwa n/10 Barytlauge, wurden im Vakuum von 15 mm bei 56 bis 60° C. die flüchtigen Säuren übergetrieben. Diese Destillation wurde solange fortgesetzt, bis etwa 500 ccm Destillat höchstens 0,15 ccm n/10 Natronlauge zur Neutralisation verbrauchten. Dies trat bei Extrakten mit niedrigem Säuregehalt nach durchweg 18 bis 24 Stunden ein, während bei höherem Säuregehalt bis zu 36 Stunden Destillationsdauer nötig waren, um diesen Endpunkt zu erreichen.

Das Destillat wurde mit n/10 Natronlauge titriert und sodann in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade eingedampft zum qualitativen Nachweis einzelner Säuren.

Der Rückstand wurde mit Bariumhydroxyd in fester Form versetzt und auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale eingedampft, nachdem zuvor nach $^1/_2$ stündigem Erhitzen das überschüssige Bariumhydroxyd mittels übergeblasener Kohlensäure entfernt war. Wenn der Schaleninhalt bis zur Sirupkonsistenz eingedickt war, wurde er auf ein Filter gegossen und heiß ausgewaschen. Der Rückstand waren Bariumphosphat und Bariumkarbonat, während die Bariumsalze der noch vorhandenen Bernsteinsäure ebenso wie die der Milchsäure und eventuell der Apfelsäure sich im Filtrat befanden.

Nachdem das Filtrat auf etwa 20 ccm eingeengt war, wurde es quantitativ in einen Meßzylinder mit einem eingeschliffenen Glasstöpsel von 200 ccm Inhalt gegeben und die

54) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. Bd. IV.

55) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. Bd. XVII.

Lösung auf 50 ccm mit Wasser aufgefüllt. Dann wurden 100 ccm 96prozentiges Alkohols darauf gegeben und nach Verschließen des Zylinders das Ganze gut durchgeschüttelt und in ein Wasserbad von 15 ° C. gestellt. Diese Vorsicht erschien angebracht, da bei höheren Temperaturen 65proz. Alkohol nachweisbare Mengen Bariumsuccinat löst, die dann als Milchsäure bestimmt werden. Nachdem sich die Temperatur genügend eingestellt hatte, wurde die überstehende Flüssigkeit von dem entstandenen Niederschlag von Bariumsalzen abfiltriert. Der Inhalt des Meßzylinders wurde mit 65prozentigem Alkohol quantitativ auf das Filter gespült und dieses mit 65prozentigem Alkohol gut ausgewaschen. Im Filtrat befand sich das milchsaure Barium, während von dem Filter die übrigen Bariumsalze mit Salzsäure gelöst und aufgefangen werden konnten.

In dem alkoholischen Filtrat wurde der Gehalt an Barium durch Fällung mittels H_2SO_4 bestimmt und aus dem gefundenen Bariumsulfat die Milchsäure berechnet.

Nachdem so alle Phasen der Untersuchung der Extrakte nach jeder Richtung hin, soweit ich dazu auf Grund der Untersuchungen von sonstigen Gärungsprodukten in der Lage war, genügend studiert und festgelegt waren, konnte ich an die eigentlichen Versuche herantreten.

Milchsäurenachweis.

Die bei der Fällung der Milchsäure als Bariumsalz und nachherige Bestimmung des Bariumgehaltes freigemachte Milchsäure wurde gesammelt und eine größere Menge davon ausgeäthert, um die reine Milchsäure frei von Schwefelsäure zu bekommen. Die wässerige Lösung des Ätherextraktes wurde mit Zinkkarbonat versetzt und etwas erwärmt, alsdann das ungelöste Zinkkarbonat abfiltriert und das Zinklaktat auskristallisiert. Die von der Mutterlauge getrennten Kristalle wurden zwischen Filtrierpapier schnell getrocknet und noch zweimal umkristallisiert. Das so erhaltene Salz wurde bei 25 ° C. mehrere Tage getrocknet und dann analysiert.

Der Wassergehalt des Salzes, bei 103 ° C. getrocknet, entsprach im Mittel aus drei Analysen:

18,5 pCt.

Angewandte Menge		Wasserverlust
I.	0,1450 g = 18,47 pCt.	0,0266 g
II.	0,0926 g = 18,6 pCt.	0,0172 g
III.	0,1642 g = 18,44 pCt.	0,0303 g

während das reine Salz mit 3 Mol. aqua 18,2 pCt. Wasser enthält.

Der Zinkgehalt wurde durch Veraschen des Salzes und Wägen des erhaltenen Zinkoxyds bestimmt.

Das Mittel aus drei Analysen betrug:

33,23 pCt.

Angewandte Menge		Zinkoxyd
I.	0,1450 g = 33,1 pCt.	0,048 g
II.	0,0926 g = 33,37 pCt.	0,0309 g
III.	0,1642 g = 33,23 pCt.	0,0546 g

der theoretische Wert beträgt 33,44 pCt. Gesondert für jeden Extrakt wurde die Milchsäure mittels Guajakol nach vorheriger Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure durch Rotfärbung nachgewiesen.

Ausgeführte Säurebestimmungen.

Die untersuchten Würzen und Biere habe ich teilweise in Kleingärung unter Beobachtung möglichst steriler Arbeitsweise hergestellt, wobei ich die in der Praxis üblichen Temperaturen einhielt, teilweise rühren sie von Versuchen in der Praxis her, die W. Windisch im Winter 1910/11 in mehreren größeren Brauereien vornahm und von denen mir

Proben, die einwandfrei genommen waren, von den betreffenden Betrieben zur Verfügung gestellt waren. Den Herren Betriebsleitern möchte ich für ihre Liebenswürdigkeit und ihre Mühewaltung auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sagen.

Die Biere und Würzen zu den Versuchsreihen **I** und **II** sind aus 12prozentigen Betriebswürzen der V. L. B. hergestellt, und zwar ist bei Versuchsreihe I dieselbe Würze genommen worden, einmal vor der Hopfenzugabe und einmal vor dem Ausschlagen. Diese Reihe soll vor allem ganz allgemein die Säureverhältnisse in der Würze und in den Bieren näher beleuchten und zugleich dazu dienen, den Unterschied zwischen gehopften und ungehopften Bieren festzustellen.

Versuchsreihe **II** ist ebenfalls aus einer etwa 14prozentigen ungehopften Betriebswürze der V. L. B. hervorgegangen; sie soll vor allem die Unterschiede im Säurebildungsvermögen bei den verschiedenen Arten von Hefen zeigen. Die Biere sind daher hergestellt:

1. mit Aßmannshäuser Weinhefe,
2. mit untergäriger Bierhefe, Typus Saaz (niedrigvergärend),
3. mit untergäriger Bierhefe, Typus Frohberg (hochvergärend).

(Ein vierter Versuch mit obergäriger Bierhefe ist infolge einer starken Milchsäureinfektion mißlungen.)

Versuchsreihe **III** setzt sich aus vier verschiedenen Würzen und Bieren einer Brauerei zusammen.

Sud I wurde mit dem stark karbonathaltigen Betriebswasser nach einem sog. Kurzmaischverfahren hergestellt. Bei Sud II ist das Einmaischwasser mit Schwefelsäure neutralisiert, und auch dem Anschwänzwasser ist Säure zugesetzt. Das Maischverfahren blieb dasselbe.

Bei dem III. Sud wurde das Maischwasser wieder neutralisiert, das Maischverfahren aber wurde folgendermaßen abgeändert: Die Maische wurde nach dem Einhalten der Einmaischtemperatur während 30 Minuten weitere 30 Minuten auf 50° C. gehalten (Eiweißrast).

(Dieses Ruhen der Maische bei den dem Eiweißabbau günstigen Temperaturen, sowohl vor wie nach dem Würzekochen, bezeichnet man als „Eiweißrast".)

Sud IV wurde wieder aus dem Betriebswasser hergestellt, doch war dieses zuvor eine halbe Stunde zur Abscheidung der gelösten Karbonate gekocht; sonst wurde genau wie bei Sud I verfahren.

Versuchsreihe **IV** besteht ebenfalls aus vier Einzelversuchen. Das Brauwasser war ein mäßig hartes, nicht sehr karbonathaltiges Wasser.

Sud I wurde mit dem mit Salzsäure entkarbonisierten Wasser hergestellt nach dem in der Brauerei üblichen Verfahren.

Beim Sud II war das Wasser mit Schwefelsäure neutralisiert, das Maischverfahren blieb dasselbe.

Zu Sud III wurde zum Einmaischen das Nachgußwasser vom Tage vorher verwandt, das etwas sauer geworden war.

Bei Sud IV gelangte das Brauwasser unverändert zur Anwendung.

Ausgeführte Säurebestimmungen.

I. Versuchsreihe.

Ungehopfte Würze und Biere.

1. 12 prozentige ungehopfte Vorderwürze V. L. B.

Extrakt aus 350 ccm ohne Säurezusatz = freie Säuren.

a) 3,5 ccm Ba $(HO)_2$ (Titer 10,9) = 3,82 n/10;

mit Säurezusatz = gebundene Säuren.

b) 3,6 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,9) = 3,9 n/10.

Die Destillation der flüchtigen Säuren ergab 1,4 ccm n/10 Natronlauge = 36,7 pCt. der freien Säuren.

Im Destillationsrückstand wurde nach der angegebenen Methode die Milchsäure bestimmt, und zwar:

$Ba\,SO_4$ = 0,0120 g = 0,0093 g Milchsäure
= 43 pCt. der fixen Säuren
= 26,7 pCt. der freien Säuren
= 1,03 ccm n/10 Natronlauge.

Die gebundenen Säuren enthielten 0,9 ccm n/10 flüchtige Säuren = 23 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0292 g $Ba\,SO_4$ = 0,0226 g Milchsäure
= 2,5 ccm n/10
= 83,4 pCt. der fixen Säuren
= 64,1 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus . .	4,9 ccm n/10	Na OH
Rosolsäure .	9,5 „ n/10	Na OH
Methylorange	17,8 „ n/10	$H_2\,SO_4$.

2. Ungehopfte Vorderwürze mit Frohberg-Hefe vergoren. 430 ccm Bier.

Freie Säuren:	Gebundene Säuren:
90 ccm $Ba(OH)_2$	12 ccm $Ba(OH)_2$
(Titer 10,9)	(Titer 10,9)
= 9,85 n/10	= 13,3 n/10

a) freie Säuren.

5,2 ccm flüchtige Säuren = 52,8 pCt.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0310 g $Ba\,SO_4$
= 0,0239 g Milchsäure
= 2,65 ccm n/10 Natronlauge
= 57,1 pCt. der fixen Säuren.
= 27,0 pCt. der freien Säuren.

b) gebundene Säuren.

1,7 ccm n/10 flüchtige Säuren = 12,8 pCt.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0536 g $Ba\,SO_4$
= 0,0413 g Milchsäure
= 4,60 ccm n/10 Natronlauge
= 41,5 pCt. der fixen Säuren
= 39,0 pCt. der gebundenen Säuren.

Lackmus . .	9,4 ccm n/10	Na OH
Rosolsäure .	17,1 „ n/10	Na OH
Methylorange	19,8 „ n/10	$H_2\,SO_4$.

3. Ungehopfte Vorderwürze mit Saaz-Hefe vergoren: 200 ccm Bier.

Freie Säuren:

4,7 $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 5,13 ccm n/10;
davon flüchtige Säuren:
2,1 ccm n/10 Natronlauge = 41,0 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

9,73 $Ba(OH)_2$) (Titer 10,9) = 10,6 ccm n/10;
davon flüchtige Säuren:
1,4 ccm n/10 Natronlauge = 12,2 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0253 g $Ba\,SO_4$
= 0,0196 g Milchsäure
= 2,18 ccm n/10
= 72,0 pCt. der fixen Säuren
= 42,5 pCt. der freien Säuren.

0,0408 g $Ba\,SO_4$
= 0,0315 g Milchsäure
= 3,5 ccm n/10
= 38,1 der fixen Säuren
= 33,0 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	8,5 ccm n/10	Na OH
Rosolsäure.	16,0 „ n/10	Na OH
Methylorange	14,50 „ n/10	$H_2\,SO_4$.

4. Das Frohberg-Hefe-Bier gelagert (3 Wochen): 200 ccm Bier.

Freie Säuren:

4,95 $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 5,4 ccm n/10;

davon flüchtige Säuren:

2,3 ccm n/10 Natronlauge = 42,7 pCt. der freien Säuren (26 Stunden).

Gebundene Säuren:

6,6 $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 7,2 ccm n/10;

davon flüchtige Säuren:

0,75 ccm n/10 Natronlauge = 10,4 pCt. der gebundenen Säuren (19 Stunden).

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0248 g $BaSO_4$
= 0,0191 g Milchsäure
= 2,12 ccm n/10
= 68,5 pCt. der fixen Säuren
= 39,2 pCt. der freien Säuren.

0,0335 g $BaSO_4$
= 0,0259 g Milchsäure
= 2,88 ccm n/10
= 44,5 pCt. der fixen Säuren
= 40,0 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	8,5 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	16,3 „	n/10 Na OH
Methylorange	18,6 „	n/10 H_2SO_4.

5. Das Saaz-Hefe-Bier gelagert (3 Wochen): 200 ccm Bier.

Freie Säuren:

4,05 $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 4,42 ccm n/10;

davon flüchtige Säuren:

2,0 ccm n/10 Natronlauge = 45,3 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren.

8,45 $Ba(HO)_2$ (Titer 10,9) = 9,2 ccm n/10;

davon flüchtige Säuren:

0,9 ccm n/10 Natronlauge = 9,8 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0221 g $BaSO_4$
= 0,0177 g Milchsäure
= 1,90 ccm n/10
= 75,5 pCt. der fixen Säuren
= 43,0 pCt. der freien Säuren.

0,0289 g $BaSO_4$
= 0,0223 g Milchsäure
= 2,48 ccm n/10
= 29,8 pCt. der fixen Säuren
= 27,0 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	8,2 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	14,8 „	n/10 Na OH
Methylorange	13,4 „	n/10 H_2SO_4.

Aus diesen drei Versuchen ist zu ersehen, daß die Säurezunahme bei der Gärung sehr beträchtlich und für alle Säuregruppen ziemlich gleichmäßig ist. Dabei ist zu beachten, daß unter den freien Säuren ein verhältnismäßig hoher Prozentsatz flüchtiger Säure ist, entsprechend der größeren Stärke der fixen Säuren, die die flüchtigen Säuren aus ihren Salzen verdrängen. Daß die Milchsäure tatsächlich stärker ist als die meisten flüchtigen Säuren, geht aus ihrem vermehrten Vorhandensein unter den gebundenen Säuren hervor.

Denn wie auch aus den Tabellen IV und V, Spalte XIII ersichtlich ist, in der die Milchsäuremengen in Gramm in 100 ccm

Würze bzw. Bier angegeben sind, enthält die Würze nur 0,0027 g freie, aber 0,0063 g gebundene Milchsäure, während das Frohberg-Schlauchbier 0,0111 g freie und 0,0201 g gebundene und das Frohberg-Lagerbier noch 0,0095 g freie, und 0,0129 g gebundene Milchsäure enthält.

Ähnlich wie bei den mit Frohberg-Hefe hergestellten Bieren liegen die Verhältnisse der Saazhefebiere, bei denen das Schlauchbier 0,0098 g freie und 0,0158 g gebundene Milchsäure enthält, während das Lagerbier noch 0,0086 g freie und 0,0112 g gebundene Milchsäure aufweist.

Freilich ist die Zusammensetzung der einzelnen Säuregruppen, d. h. der freien bzw. gebundenen Gesamtsäuren hinsichtlich der Art der Säuren ziemlich verschieden.

Stellt z. B. die Milchsäure bei den freien fixen Säuren sowohl des Frohberg- wie des Saazhefe-Schlauchbieres einen höheren Prozentsatz als bei den gebundenen fixen, wie sich aus Spalte XI der Tabellen IV und V ergibt, so zeigen doch die Spalten XII, daß bei Frohberg-Hefe ein größerer Prozentsatz Milchsäure unter den gebundenen als unter den freien Säuren ist, während das Saazhefebier mehr Milchsäure unter den freien als unter den gebundenen aufzuweisen hat.

Während aber bei dem Frohberghefebier während der Lagerung noch eine Säurezunahme insgesamt stattgefunden hat (Tabelle IVa, Spalte II und Tabelle Va, Spalte II) und auch die freien Säuren noch gestiegen sind (Tabelle IV, Spalte V und Tabelle V, Spalte V), hat das Saazhefebier beim Lagern durchweg Säure verloren (Tabelle IV a, Spalte II Tabelle Va, Spalte II, Tabelle IV, Spalte V und TabelleV, Spalte V).

Auf dieses verschiedene Verhalten der beiden Hefen möchte ich schon hier hinweisen, da es sich bei dem folgenden Versuch wieder zeigt. Mithin bildet die Frohberg-Hefe mehr fixe Säuren, die stärker sind als Milchsäure, als die Saazhefe, wodurch dann ein höherer Prozentsatz Milchsäure frei wird.

II. Versuchsreihe.

Gehopfte Würze und Biere.

Bei der gehopften 12prozentigen Würze aus der V. L. B. und den mit der Frohberg-Hefe und der Saazhefe hergestellten Schlauchbieren waren die Untersuchungsergebnisse folgende:

II. Versuchsreihe.

1. Gehopfte Würze: 200 ccm.

Freie Säuren:

2,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 2,7 ccm n/10
= 1,36 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,80 ccm n/10 Natronlauge (18 Stunden)
= 29,4 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0142 g $BaSO_4$
= 0,0109 g Milchsäure
= 1,21 ccm n/10
= 63,0 pCt. der fixen Säuren
= 44,5 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

7,4 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 7,9 ccm n/10
= 3,98 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,90 ccm n/10 Natronlauge (20 Stunden)
= 11,2 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0292 g $BaSO_4$
= 0,0226 g Milchsäure
= 2,50 ccm n/10
= 35,6 pCt. der fixen Säuren
= 31,6 pCt. der gebundenen Säuren.

2. Gehopfte Würze mit Frohberg-Hefe vergoren: 200 ccm Bier.

Freie Säuren.

5,4 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 5,9 ccm n/10 = 2,95 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

2,6 ccm n/10 Natronlauge (16 Stunden) = 44,2 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

9,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 10,35 ccm n/10 = 5,17 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,35 ccm n/10 Natronlauge (14 Stunden) = 3,4 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0330 g $BaSO_4$
= 0,0255 g Milchsäure
= 2,83 ccm n/10
= 85,7 pCt. der fixen Säuren
= 49,7 pCt. der freien Säuren.

0,0756 g $BaSO_4$
= 0,0584 g Milchsäure
= 6,5 ccm n/10
= 65,0 pCt. der fixen Säuren
= 62,8 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	9,0 ccm	n/10 NaOH
Rosolsäure	16,4 „	n/10 NaOH
Methylorange	19,2 „	n/10 H_2SO_4.

3. Gehopfte Würze mit Saazhefe: 220 ccm Bier.

Freie Säuren:

4,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 4,9 ccm n/10 = 2,23 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

2,2 ccm n/10 Natronlauge = 44,8 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

9,4 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 10,25 ccm n/10 = 4,65 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,7 ccm n/10 Natronlauge = 6,83 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0232 g $BaSO_4$
= 0,0179 g Milchsäure
= 1,99 ccm n/10
= 73,8 pCt. der fixen Säuren
= 40,7 pCt. der freien Säuren.

0,0452 g $BaSO_4$
= 0,0349 g Milchsäure
= 3,8 ccm n/10
= 39,8 pCt. der fixen Säuren
= 37,1 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	8,0 ccm	n/10 NaOH
Rosolsäure	16,1 „	n/10 NaOH
Methylorange	13,2 „	n/10 H_2SO_4.

Vergleicht man den Versuch I (mit ungehopfter) und Versuch II (mit gehopfter Würze), so wird man bei der Würze und dem Frohberg-Bier bei Versuch II einen zwar sehr geringen, aber doch immerhin nachweisbaren Zuwachs der Gesamtazidität feststellen können, während für die Saazhefe eine geringe Abnahme der Gesamtsäure stattfindet. Bei dem geringen Gehalt an gelösten Bittersäuren, die nach beendeter Gärung noch im Bier vor-

handen sind[56]), aber nur noch höchstens 0,005 g im Liter Bier betragen, mußte es schon an sich schwer sein, überhaupt einen deutlichen Unterschied zwischen dem Säuregehalt einer gehopften und einer ungehopften Würze festzustellen.

Es lag freilich die Möglichkeit vor, daß sich bei der gehopften Würze durch ausgeätherte Bitterstoffe (Hopfenharze und Bittersäuren) ein Unterschied feststellen ließe, und der tatsächliche Unterschied in der prozentualen Zusammensetzung der Säuregruppen (freie und gebundene) hat diese Vermutung gerechtfertigt.

Schon der Prozentgehalt der gesamten freien, mit Äther extrahierbaren sauren Körper der Würze ist um etwa 0,3 ccm n/10 pro Hundert gestiegen (siehe Tabelle IV und VI, Spalte V). Daß es sich im übrigen beim Kochen der gehopften Würze eventuell doch um, wenn auch nur geringe Verluste von flüchtigen Säuren handelt (die ungehopfte Würze ist ungekocht, während die gehopfte Würze etwa 2 Stunden mit Hopfen gekocht hat), ergibt sich aus dem geringeren Prozentgehalt an flüchtigen Säuren bei den freien (Spalten VII), wodurch natürlich der Gehalt an fixen Säuren prozentualiter steigt. Der Rückgang an flüchtigen Säuren von 36,7 auf 29,4 pCt. beträgt fast 7 pCt., während die Steigerung der fixen von 63,3 auf 70,6 pCt. ebenfalls fast 7 pCt. ausmacht.

Die Milchsäure hat durch die Hopfengabe ebenfalls bei den freien Säuren zugenommen, 0,0061 pCt. (Spalten XIII der Tabellen IV und VI) gestiegen.

Bei den gebundenen Säuren aber ist eine ganz deutliche Beeinflussung der Würze durch den Hopfen festzustellen. Nicht nur der Gesamtgehalt an gebundenen Säuren steigt von 1,12 vom Hundert auf 3,98 vom Hundert, auch der Gehalt an flüchtigen Säuren fällt von 23,0 von Hundert auf 11,3 von Hundert, einerseits ein Zeichen dafür, daß die Hopfensäuren stärker sind als die flüchtigen Säuren im allgemeinen, andererseits aber auch, daß beim Kochen der Würzen weitere Umsetzungen zwischen den Phosphaten und organischen Säuren auf der einen, wie zwischen den Phosphaten und den etwa gelösten anorganischen Salzen auf der anderen Seite stattfinden. Auch der Gehalt an gebundener Milchsäure ändert sich deutlich, er steigt von 0,0063 g in Hundert auf 0,0113 g in Hundert, mithin um rund 100 von Hundert. Ob diese Steigerung auf irgendwelche Einflüsse der im Hopfen enthaltenen Phosphate und deren Lösung, oder aber auf anderweitige Änderungen irgendwelcher Eiweißkörper zurückzuführen ist, ist ohne eingehende Untersuchung wohl kaum zu entscheiden. Im Verhältnis zur Zunahme der übrigen Säuren, sowohl der fixen, als auch der Gesamtmenge der gebundenen Säuren, ist ein überaus starkes Zurücktreten der Milchsäure zu beachten.

Ist also schon bei der gehopften Würze eine Zunahme des Säuregehaltes zu bemerken, so ist dies bei den Bieren noch in etwas größerem Maße der Fall.

Namentlich bei dem mit der Frohberg-Hefe hergestellten Biere ist in jeder Richtung eine deutliche Zunahme feststellbar. Steigt der Gesamtgehalt an freien Säuren schon von 2,29 von Hundert auf 2,95 von Hundert, also um etwa 0,65 von Hundert, so ist auch hier, analog dem Befunde bei der Würze, eine Zunahme an fixen Säuren, auch an Milchsäure unverkennbar (von 0,0111 von Hundert auf 0,0128, Spalten XIII der Tabellen IV und VI).

Noch auffallender ist die Zunahme wieder bei den gebundenen Säuren, freilich prozentualiter nicht so stark wie bei der Würze; doch hat hier auch ein Steigen der fixen Säuren und mit ihnen der Milchsäure stattgefunden (von 0,0201 auf 0,0316, Spalten XIII).

Im Gegensatz zu dem mit Frohberg-Hefe hergestellten Biere steht das Saazhefebier.

56) Wigmann, Allgemeine Brauer- und Hopfenzeitung 1911.

Hier ist eine auffallende Gleichheit zwischen beiden Produkten zu bemerken, ja sogar ein geringes Sinken des Gehaltes an freier sowohl wie an gebundener Säure ist unverkennbar (von 2,57 auf 2,23, Spalten V), also um 0,34 von Hundert und von 5,3 auf 4,65 von Hundert (Spalten V). Auch die prozentuale Zusammensetzung der Extrakte an flüchtigen und fixen Säuren läßt einen Unterschied nur sehr schwach erkennen.

Zu beachten ist hierbei, wie überhaupt bei allen Versuchen, daß eine absolute Übereinstimmung in den Werten selbst bei Kontrollanalysen nicht möglich ist. Der Grund hierfür liegt einmal darin, daß es kaum angängig ist, bei etwas größeren Gärungen deren Reinheit so vollkommen aufrecht zu erhalten wie bei Gärungen in Flüssigkeiten von Bruchteilen eines Liters.

Außerdem ist die Genauigkeit der bisher bekannten Untersuchungsmethoden für organische Stoffe, namentlich auch die Trennung von organischen Säuren mittels Vakuum, immer nur eine relative — soweit es sich um Mengen handelt, die nur in Bruchteilen eines Grammes vorhanden sind —, so daß schon ein Unterschied in der Titration des Destillates, das die flüchtigen Säuren enthält, von nur 0,5 ccm n/10 Lauge eine Differenz von mehreren Prozent ausmachen kann.

Es ist also der Unterschied zwischen den Bieren, mit Saazhefe hergestellt aus der gehopften und der ungehopften Würze, zu einem großen Teil auf diese kleinen analytischen Unstimmigkeiten zurückzuführen.

Man kann daher sagen, daß ein Unterschied zwischen diesen beiden Bieren kaum vorhanden ist.

Sollte diese Erscheinung nicht ein Hinweis sein, daß die einzelnen Heferassen sich ein eigenes Säuremilieu schaffen, daß sie bei einem bestimmten Gehalte ihre Gärtätigkeit, oder besser gesagt ihre Säurebildung aufgeben, oder aber womöglich die anfänglich mehr gebildete Säure bis zu einem gewissen Prozentsatz wieder verbrauchen?

Über die Titration der bisher besprochenen Würzen und Biere.

Im Anschluß an diese Bestimmungen der organischen Säuren möchte ich hier gleich auch auf die Titration der verschiedenen Flüssigkeiten eingehen.

Es interessieren namentlich die durch Titration mit n/10 Lauge gegen Lackmus und mit n/10 Säure gegen Methylorange erhaltenen Werte.

Die durch die Titration mit Lauge gegen Lackmus erhaltene Anzahl Kubikzentimeter zeigt den Gehalt an freier organischer Säure und an sauren Salzen — organischen wie anorganischen —, besonders an primären Phosphaten an. Durch die Titration mit Säure gegen Methylorange dagegen wird der Gehalt an sekundären Phosphaten und an organischen Salzen angezeigt.

Aus der unbekannten chemischen Zusammensetzung der Würze und dem unbekannten Gehalt an Salzen verschiedener Konstitution, sowie aus der Mannigfaltigkeit der vorhandenen Säuren ergibt sich, daß die durch Titration erhaltenen Werte nur ein ganz allgemeines Bild von der Art der Azidität geben und höchstens einige Schlüsse auf die Zusammensetzung der Würze gestatten.

An Hand der mit den Flüssigkeiten der beiden vorhergehenden Versuchsreihen ausgeführten Titrationen möchte ich hier kurz diese Frage beleuchten.

(Siehe Tabelle IIIa auf S. 40.)

In der Tabelle IIIa tritt sowohl bei den Lackmus- wie auch bei den Rosolsäurewerten die Aziditätszunahme der Biere gegenüber der Würze deutlich hervor, und zwar entsprechend dem Befunde, nach dem die Frohberg-Hefe mehr Säure bildet als die Saazhefe, bei den ersteren stärker als bei den letzteren.

Leider fehlen die entsprechenden Werte für die gehopfte Würze, doch dürften die Verhältnisse dort sehr ähnlich liegen, wenn man die bekannte Tatsache in Betracht zieht, daß bei gehopfter Würze nur eine geringe Zunahme

Tabelle IIIa.

Bezeichnung	A. Ungehopft			B. Gehopft		
	I. Lackmus	II. Rosolsäure	III. Methylorange	I. Lackmus	II. Rosolsäure	III. Methylorange
a) Würze	4,9	9,5	17,8	—	—	—
b) Frohberg-Hefe (Schlauchbiere) .	9,4	17,1	19,8	9,0	16,4	19,2
c) Saaz-Hefe	8,5	16,0	14,5	8,0	16,1	13,2

der durch Titration ermittelten Azidität gegenüber der ungehopften zu bemerken ist. Auch der geringe Unterschied, namentlich zwischen den beiden Bieren aus den beiden Würzen läßt die Annahme als zulässig erscheinen. Der Unterschied bei den Frohberg-Bieren dürfte andere Ursachen haben, ich komme darauf im folgenden zurück.

Im Gegensatze zu den Lackmuswerten scheinen die Werte, die durch Titration gegen Methylorange erhalten wurden, der vorher aufgestellten Theorie, daß die organischen Säuren, insbesondere die Milchsäure, imstande seien, die zweibasischen Phosphate in einbasische zu verwandeln, zu widersprechen, denn der Wert für das Frohberghefe-Bier (III b) ist höher als der für die Würze (III a), während für das Saazhefe-Bier der Wert (III c) der Theorie entspricht.

Hier spielen die im theoretischen Teil dieser Arbeit schon erwähnten Tatsachen eine Rolle, denn es ist wohl anzunehmen, daß die Frohberghefe auch mehr Aminosäure vergärt neben der leichteren Vergärung von Kohlehydraten. Dadurch würde mehr Ammoniak frei, das durch die organischen Säuren gebunden wurde. Die Ammonsalze der organischen Säuren aber verhalten sich gegen Methylorange so, als wenn freies Ammoniak vorläge, mithin wird der Gehalt an zwei- und dreibasischen Phosphaten und an organischen Ammon- und Alkalisalzen durch die Titration angezeigt.

Hinweisen möchte ich ferner auf die Tatsache, daß die Saazhefe wie auch die Frohberghefe in gehopfter Würze ein Bier von geringerer Azidität sowohl wie Alkalität erzeugen, ein Unterschied freilich, der nur gering ist, aber immerhin zu groß, als daß er unbeachtet bleiben dürfte.

Diese Aziditätabnahme entspricht bei der Saazhefe auch dem geringeren Gehalt an freien Säuren, so daß ein hemmender Einfluß des Hopfens auf die Gärtätigkeit zu beobachten ist. Ob dieser Einfluß durch Verringerung der Permeabilität der Membran hervorgerufen wird, indem die Hopfenharze diese verkleben, darüber scheint nichts bekannt zu sein.

Bei der Frohberghefe dagegen entspricht diese Aziditätsabnahme bei dem gehopften Bier nicht den Befunden der Extraktion, vielmehr nimmt der Extrakt an gebundener Säure zu, wie auch der Gehalt an gebundener Säure ein größerer im gehopften Bier ist. Wodurch diese Erscheinung zu erklären ist, konnte nicht festgestellt werden.

Unmöglich wäre es nicht, daß durch das Kochen der Würze mit Hopfen Stoffe ausgeschieden werden, die gegen einen Indikator wie Lackmus sauer, gegen Methylorange aber alkalisch reagieren. Denn während die ungehopfte Würze sofort nach Beendigung des Maischprozesses dem Sammelbottich entnommen wurde, ist die gehopfte Würze erst dem fertigen Sude entnommen d. h. nachdem die Würze etwa zwei Stunden mit Hopfen gekocht ist, wobei sich ohne Frage Umsetzungen

mancherlei Art vollziehen und vor allem ein ganzer Teil koaguliertes Eiweiß und Umsetzungsstoffe sich abscheiden. So z. B. finden erst beim Kochen die letzten Ausscheidungen von tertiärem Kalziumphosphat statt, von dem ich oben gesprochen habe.

Die gehopfte Würze ist also ein anderes Produkt als die ungehopfte, und die Annahme ist daher nicht ausgeschlossen, daß die Frohberghefe in dieser ein ihr besser zusagendes Milieu findet, das sie zu erhöhter Tätigkeit veranlaßt. Die Abnahme der Azidität gegen Lackmus trotz der Zunahme der freien Säuren ließe dann auf eine Abnahme der übrigen sauer reagierenden Körper, namentlich der Phosphate schließen.

Das unterschiedliche Verhalten der beiden Hefen Frohberg und Saaz hinsichtlich der Gärtätigkeit überhaupt sucht Prior[57]) in seinem Werke mit der verschiedenen Durchlässigkeit der Zellmembran für bestimmte Kohlehydrate zu erklären. Danach sind unter den in der Brauerei üblichen Gärtemperaturen eine Reihe von Kohlehydraten für Frohberghefe vergärbar, die infolge ihres größeren Durchlässigkeitsvermögens imstande ist, auch Kohlehydrate von niedrigerem osmotischen Druck zu vergären als die Saazhefe. Zu diesen letzteren Kohlehydraten gehören z. B. die Isomaltose, die von Hefe Frohberg leichter vergoren wird als von Saazhefe.

Wenn aber eine Hefe mehr Kohlehydrate vergärt, so muß sie naturgemäß mehr Umsetzungsprodukte bilden, was sich durch die Zunahme der Azidität zu erkennen gibt.

Mit der Änderung der Art der Azidität wird aber auch notwendigerweise eine Änderung der Art der Alkalität verbunden sein.

Denn wie sich aus der Differenz zwischen den durch Titration gegen Lackmus erhaltenen Werten und den Extraktzahlen ergibt, entfällt bei der Würze, aber noch vielmehr bei den Bieren, der größte Teil der Azidität auf die sauer reagierenden Körper, die nicht als „Säuren" mit Äther extrahiert sind. Ein Blick auf Tabelle III b zeigt dies deutlich.

Tabelle IIIb.

	Würze	Frohberg-Hefe	Saazhefe
Lackmus	4,9	9,4	8,5
Extrakt	1,1	2,3	2,6
Rest für sauer reagierende Körper . . .	3,8	7,1	5,9

Die Resultate dieser Tabelle wurden dadurch gewonnen, daß von den Werten der Titration gegen Lackmus die entsprechenden Extraktzahlen freier Säuren subtrahiert wurden. Es ergibt sich daraus eine starke Zunahme der wohl hauptsächlich durch saure Phosphate hervorgerufenen Azidität.

Wenn aber der Gehalt an sauren Phosphaten durch den Einfluß der organischen Säuren erhöht wird, so muß der Gehalt an gegen Methylorange basisch reagierenden Körpern, der ebenfalls bei der Gärung eine Zunahme (bei der Frohberghefe) erfährt, durch andere Körper veranlaßt sein. Hierfür kommen nur die organischen Salze in Frage, sowohl Kalzium- wie Kalium- und namentlich auch Ammonsalze. Es ergibt sich also, daß die Alkalität gegen Methylorange bei einer Würze hauptsächlich durch die zweibasischen Phosphate hervorgerufen wird, während bei den Bieren der Gehalt an organischen Salzen wohl die Hauptursache ist.

Diese Versuche haben gezeigt, daß in verschiedenem Maße der Einfluß des Hopfens in die Erscheinung tritt. Er bewirkt ohne Frage im allgemeinen eine freilich nur geringe Zunahme der Azidität, wobei die Reizbarkeit der verschiedenen Hefen durch die Hopfenbestandteile bei der Bierbereitung von Bedeutung sein kann.

Andererseits aber zeigen sie deutlich den Unterschied zwischen den beiden Hefentypen Saaz (M) und Frohberg (U).

57) Prior, Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres.

In noch stärkerem Maße ist dies bei den folgenden Versuchen der Fall, die besonders dazu angestellt sind, um diese Unterschiede zu zeigen. Zu diesem Zwecke wurde dieselbe Würze mit einer typischen Weinhefe (Aßmannshäuser) und den beiden typischen untergärigen Brauereihefen Saaz (niedrigvergärend) und Frohberg (hochvergärend) und einer obergärigen Brauereihefe (Typus V. L. B.) vergoren. Leider sind die Versuche mit der obergärigen Hefe durch Infektion mißglückt, ebenso zeigte sich, daß die beiden Lagerbiere der untergärigen Bierhefe verdorben waren, als sie pasteurisiert werden sollten; die Ursache des Verderbens konnte nicht festgestellt werden. Die Hefen wurden mir von Herrn Prof. Henneberg zur Verfügung gestellt, wofür ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sagen möchte.

III. Versuchsreihe.

1. Ungehopfte Vorderwürze: 250 ccm.

Freie Säuren:

2,7 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 11,3) = 3,05 ccm n/10 = 1,22 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,8 ccm n/10 Natronlauge (12 Stunden) = 26,2 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0178 g Ba SO_4
= 0,0137 g Milchsäure
= 1,52 ccm n/10
= 0,0055 pCt. der Würze
= 67,5 pCt. der fixen Säuren
= 49,8 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

10,3 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,6) = 11,6 ccm n/10 = 4,66 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,90 ccm n/10 Natronlauge (11 Stunden) = 7,73 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0544 g Ba SO_4
= 0,0420 g Milchsäure
= 4,65 ccm n/10
= 0,0168 pCt. der Würze
= 43,4 pCt. der fixen Säuren
= 40,0 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	6,2 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	11,0 „	n/10 Na OH
Methylorange	20,2 „	n/10 $H_2 SO_4$.

2. Ungehopfte Vorderwürze mit Weinhefe (Aßmannshausen) vergoren: 200 ccm.

Freie Säuren:

9,7 ccm Ba (OH) (Titer 11,3) = 10,9 ccm n/10 = 5,5 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

5,45 ccm n/10 Natronlauge (29 Stunden) = 50,00 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0256 g (Ba $SO)_4$
= 0,0199 g Milchsäure
2,22 ccm n/10
= 0,0100 pCt. des Bieres
40,8 pCt. der fixen Säuren
20,4 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

18,6 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 11,3) = 21,0 ccm n/10 = 10,5 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,175 ccm n/10 Natronlauge (14 Stunden) = 0,84 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0668 g Ba $(SO)_4$
= 0,0516 g Milchsäure
= 5,73 ccm n/10
= 0,0258 pCt. des Bieres
= 27,4 pCt. der fixen Säuren
= 27,3 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	10,7 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	16,4 „	n/10 Na OH
Methylorange	12,2 „	n/10 H_2SO_4.

3. Ungehopfte Vorderwürze mit Saaz-Hefe (niedrigvergärend): 450 ccm.

Freie Säuren:

9,4 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,6) = 9,97 ccm n/10 = 2,21 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

2,6 ccm n/10 Natronlauge (25 Stunden) = 26,1 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0322 g Ba SO_4
= 0,0249 g Milchsäure
= 2,77 ccm n/10
= 0,0055 pCt. des Bieres
= 37,6 pCt. der fixen Säuren
= 27,8 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

20,4 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,6) = 21,83 ccm n/10 = 4,86 pCt.

davon flüchtige Säuren:

1,10 ccm n/10 Natronlauge (19 Stunden) = 5,04 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0808 g Ba SO_4
= 0,0625 g Milchsäure
= 6,94 ccm n/10
= 0,0144 pCt. des Bieres
= 33,3 pCt. der fixen Säuren
= 31,6 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	13,5 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	18,5 „	n/10 Na OH
Methylorange	12,8 „	n/10 H_2SO_4.

4. Ungehopfte Vorderwürze mit Frohberg-Hefe (hochvergärend): 200 ccm.

Freie Säuren:

4,8 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 11,4) = 5,48 ccm n/10 = 2,74 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

1,9 ccm n/10 Natronlauge (30 Stunden) = 34,6 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0246 g Ba SO_4
= 0,0190 g Milchsäure
= 2,11 ccm n/10
= 0,0095 pCt. des Bieres
= 59,0 pCt. der fixen Säuren
= 38,6 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

16,4 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,6) = 17,4 ccm n/10 = 8,7 pCt.

davon flüchtige Säuren:

0,85 ccm n/10 Natronlauge (27 Stunden) = 4,88 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0836 g Ba SO_4
= 0,0646 g Milchsäure
= 7,18 ccm n/10
= 0,0323 des Bieres
= 44,0 pCt. der fixen Säuren
= 41,4 pCt. der gebundenen Säuren.

Bei dem Vergleich der Ergebnisse fällt eine Tatsache sofort ganz besonders auf: Das überragende „Säurebildungsvermögen" der Aßmannshäuser (Wein-) Hefe.

Während das für die Versuchsreihe I (ungehopfte Biere) Gesagte namentlich bezüglich der Gärerscheinungen der Frohberg- und der Saazhefe im allgemeinen sofort auch auf diese

Gärungen anwendbar ist, trotzdem die Heferassen aus ganz anderen Gärungen stammten, wie bei den ersten Versuchsreihen, fällt die Weinhefe vollkommen aus dem Rahmen.

Nicht nur der Gehalt an freien Säuren nimmt gegenüber den Bierhefen um 100 pCt. zu, auch die Zusammensetzung des Gemisches von freien Säuren ist prozentualiter durchaus verschieden von dem der Bierhefen. Enthalten diese etwa 30 pCt. flüchtige Säuren und 70 pCt. gebundene Säuren (Tabelle VII), so machen bei jener die flüchtigen Säuren 50 pCt. der freien Säuren (Tabelle VII) aus. Die freie Milchsäure macht bei den untergärigen Bieren 0,006—0,009 pCt, (Spalte XIII, Tabelle VII) des Bieres aus, bei der Weinhefe aber beträgt der Gehalt daran 0,02 pCt. (Spalte XIII).

Ebenso wie bei den freien Säuren liegen die Verhältnisse bei den gebundenen Säuren. Auch hier im Gesamtgehalt an Säuren die überragende tSellung der Weinhefe. Auch der Gehalt des Extraktes an fixen Säuren ist bei ihr bei weitem am höchsten und nähert sich bis auf ein Geringes 100 vom Hundert, von denen freilich die Milchsäure im Vergleich mit den anderen Bieren den kleinsten Bestandteil ausmacht. Dabei ist der Gehalt an Milchsäure auch hier sehr groß.

Auch die Tabelle VIIa, in der die Summen der freien und der gebundenen Säuren für jedes Bier eingetragen sind, zeigt dieses erhöhte Säurebildungsvermögen der Weinhefe, so daß die Annahme eines bestimmten Säuremilieus an Wahrscheinlichkeit gewinnt, ebenso wie die P r i o r sche Hypothese, mit der er die Erhöhung des Gärvermögens der Hefetypen begründet. Danach gehört die Weinhefe zu den Hefen, die an Permeabilität der Membran die Frohberghefe noch übertreffen, und nähert sich so dem Typus der Logoshefe.

Was den Vergleich zwischen den Würzen und den Bieren der Versuchsreihen I und III (beide ungehopft) anbelangt, so muß man dabei in Betracht ziehen, daß die Würze zu der III. Versuchsreihe aus einem Malz des Jahres 1911 hergestellt ist, während zu der Würze der Versuchsreihe I ein Malz des Jahres 1910 verwandt ist. Hinsichtlich ihrer Zusammensetzung sind sie wesentlich verschieden, namentlich was die gebundenen Säuren und auch die Milchsäuren anbelangt.

Daß in solch verschiedenen Würzen Hefen ganz anders wachsen und arbeiten und infolgedessen auch anders zusammengesetzte und anders geartete Produkte liefern, zumal da es sich hier um andere Heferassen handelt, liegt auf der Hand.

Besonders auf das Verhalten der Saazhefe gegenüber der Milchsäure möchte ich hinweisen. Aus den Werten der Tabelle VII, Spalte XIV, ersieht man, daß zu dem in der Würze vorhandenen Gehalt an freier Milchsäure keine neugebildete hinzugekommen ist oder vielmehr ein Mehr nicht hat festgestellt werden können. Denn warum sollte die Hefe nicht ursprünglich neue Säuren gebildet haben, die sie dann selbst wieder verarbeitet hat?

Noch auffallender ist der Befund an gebundener Milchsäure (Tabelle VIII, Spalte XIV). Danach ist sogar bei der Saazhefe weniger gebundene Milchsäure wie in der Würze. Eine Erklärung wäre die, daß stärkere organische Säuren die Milchsäure aus ihren Salzen verdrängt haben, die dann von der Hefe verbraucht ist.

Die Titration gibt für die Frohberg- und Saazbiere Bilder, die dem analytischen Befunde in gewisser Weise entsprechen, nicht dagegen die Titration des Weinhefebieres.

Während die Würze ein ähnliches Resultat gibt, wie die im ersten Versuche untersuchte (siehe Tabelle VI, Spalte I—III), wobei ihr allgemein etwas sauerer Charakter in Erscheinung tritt, sollte man annehmen, daß das Bier aus Aßmannshäuser Weinhefe seinen so bedeutend höheren Gehalt an Säure durch einen höheren Laugeverbrauch gegenüber Lackmus erkennen ließe. Das ist nicht der Fall, vielmehr hat sogar die niedrigvergärende Saazhefe noch eine höhere Azidität

sowohl wie Alkalität, ganz abgesehen von den bedeutend höheren Werten, die die Titration des Frohberghefebieres ergibt.

IV. Versuchsreihe: Neutralisierte Brauwässer.

Während nun die bisher besprochenen Versuche mit gewöhnlichen Betriebswürzen bzw. den Bieren aus diesen angestellt waren, komme ich jetzt auf die Versuche mit Würzen und Bieren, bei denen das Maischwasser entweder mit einer anorganischen Säure neutralisiert ist zur Entfernung der Karbonate oder aber diese letzteren durch vorhergehendes Kochen möglichst weit entfernt sind.

Würzen und Biere der A. M.-Brauerei. Würzen I—IV.

Würze I.

460 ccm.

Freie Säuren;

2,1 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 2,29 ccm n/10 = 0,5 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,8 ccm n/10 Natronlauge (12 Stunden) = 35,0 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0131 g $BaSO_4$
= 0,0094 g Milchsäure
= 1,05 ccm n/10
= 70,5 pCt. der fixen Säuren
= 46,0 pCt. der freien Säuren.

230 ccm.

gebundene Säuren:

5,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 6,0 ccm n/10 = 2,61 pCt.;

davon flüchtige Säuren:

0,75 ccm n/10 Natronlauge (nach 12 Stunden) = 12,5 pCt. der freien Säuren.

0,0348 g $BaSO_4$
= 0,0269 g Milchsäure
= 2,98 ccm n/10
= 57,0 pCt. der fixen Säuren
= 46,0 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	3,0 ccm n/10	Na OH
Rosolsäure	13,2 „ n/10	Na OH
Methylorange	14,4 „ n/10	H_2SO_4

Würze II: 240 ccm.

Freie Säuren:

1,25 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 1,36 ccm n/10 = 0,57 pCt. der Würze;

davon flüchtige Säuren:

0,4 ccm n/10 Natronlauge (12 Stunden) = 29,4 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0096 g $BaSO_4$
= 0,0074 g Milchsäure
= 0,82 ccm n/10
= 85,5 pCt. der fixen Säuren
= 60,4 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

11,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 12,9 ccm n/10 = 5,38 pCt. der Würze;

davon flüchtige Säuren:

0,475 ccm n/10 Natronlauge (11 Stunden) = 3,68 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0496 g $BaSO_4$
= 0,0383 g Milchsäure
= 4,26 ccm n/10
= 34,2 pCt. der fixen Säuren
= 29,1 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	4,2 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	10,0 „	n/10 Na OH
Methylorange	20,2 „	n/10 H_2SO_4

Würze III: 200 ccm.

Freie Säuren:

1,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 1,96 ccm n/10
= 0,98 pCt. der Würze;

davon flüchtige Säuren:

0,8 ccm n/10 Natronlauge (18 Stunden)
= 40,8 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0122 g $BaSO_4$
= 0,0094 g Milchsäure
= 1,05 ccm n/10
= 90,5 pCt. der fixen Säuren
= 59,2 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

12,3 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 13,41 ccm n/10
= 6,7 pCt. der Würze;

davon flüchtige Säuren:

0,6 ccm n/10 Natronlauge (20 Stunden)
= 4,48 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0586 g $BaSO_4$
= 0,0453 g Milchsäure
= 5,07 ccm n/10
= 39,6 pCt. der fixen Säuren
= 37,9 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	7,2 ccm	n/19 Na OH
Rosolsäure	16,4 „	n/10 Na OH
Methylorange	22,6 „	n/10 H_2SO_4

Würze IV: 180 ccm.

Freie Säuren:

2,0 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 2,18 ccm n/10
= 1,21 pCt. der Würze;

davon flüchtige Säuren:

0,45 ccm n/10 Natronlauge (11 Stunden)
= 20,6 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0164 g $BaSO_4$
= 0,0127 g Milchsäure
= 1,4 ccm n/10
= 81,4 pCt. der fixen Säuren
= 64,7 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

8,7 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 9,5 ccm n/10
= 4,75 pCt. der Würze;

davon flüchtige Säuren:

0,4 ccm n/10 Natronlauge (13 Stunden)
= 4,23 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0674 g $BaSO_4$
= 0,0521 g Milchsäure
= 5,8 ccm n/10
= 64,3 pCt. der fixen Säuren
= 61,2 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration der Würze ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	5,6 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	13,0 „	n/10 Na OH
Methylorange	19,6 „	n/10 H_2SO_4

Die vier Würzen zeigen alle eine ganz verschiedene Zusammensetzung bezüglich ihres Säuregehaltes und der Verteilung der Säuren auf die einzelnen Gruppen.

Würze I, die aus sehr karbonatreichem Wasser hergestellt ist, zeigt den geringsten Gehalt an freien Säuren, ein Beweis, daß die Karbonate die beim Maischprozeß freigewordenen Säuren gebunden haben. Aber auch gebundene Säuren sind im Vergleich mit den anderen drei Würzen sehr gering. Der hemmende Einfluß der Karbonate auf die Tätigkeit der Enzyme ist sofort in die Augen fallend. Eine deutliche Übersicht geben die beiden Kurventafeln 1 und 2 (Tabelle IX), denn in beiden Kurven steigt die Kurve von der Karbonatwürze zu den Würzen aus dem verbesserten Brauwasser.

Aber auch aus den Prozentzahlen der Gesamtsäure, wie sie in Tabelle IX a, Spalte II zusammengestellt sind, zeigen den Abstand dieser Würze von den drei anderen.

Was nun die Verbesserung des Brauwassers durch die Entfernung der Karbonate anbelangt, so ist der Unterschied, nach der Gesamtsumme der Säuren (Tabelle IX a, Spalte II) beurteilt, nicht allzu groß. Freilich am meisten Gesamtsäure ist in der Würze gebildet, bei deren Herstellung die günstigsten Bedingungen der Säurebildung angewandt sind, d. h. bei Würze III, bei der nicht nur das Brauwasser etwas übersäuert war, sondern auch durch vorheriges kaltes Einmaischen (acht bis zehn Stunden vor Beginn des eigentlichen Maischprozesses wurden Malz und Wasser zusammengegeben), das sog. Vormaischen, den auf dem Malz befindlichen Bakterien Gelegenheit zur Entwicklung gegeben war. Außerdem sind bei dieser Würze noch die für den Eiweißabbau günstigen Temperaturen bei 50 ° C. etwa eine Stunde lang eingehalten, wodurch die Azidität auch noch gefördert wird. Die Würze überragt in dem Gesamtsäuregehalt mit 7,7 pCt. die übrigen bedeutend.

Zwischen diesen beiden Extremen liegen die beiden letzten II und IV, mit annähernd gleichem Gesamtgehalt an Säure.

Daß die Milchsäurebildung durch die gewaltsame Erhöhung der Azidität der Würze eher geschädigt als gefördert wird, zeigt der Gesamtprozentgehalt der Würzen an dieser Säure in Tabelle IX a, Spalte IV.

Was die prozentuale Zusammensetzung der Säuregruppen anbelangt, so zeigt sich, wie bei den vorigen Versuchsreihen, daß die flüchtigen Säuren in der größeren Menge in freiem Zustande vorhanden sind.

Freilich sind diese Zahlen immer nur bedingt miteinander vergleichbar, da die Würzen als Betriebswürzen mit Hopfen gekocht sind und eine verschieden starke Verflüchtigung der flüchtigen Bestandteile der Würzen gar nicht zu vermeiden ist.

Zu bemerken ist ferner, daß die Milchsäure mit steigender Säuerung einen immer größeren Prozentsatz der freien fixen Säuren ausmacht, einerseits erklärlich durch den höheren Gehalt an mineralischen Säuren der Würze II, andererseits bei Würze III ein Beweis, daß die Eiweißrast hauptsächlich die Bildung der Säuren, die stärker sind als die Milchsäure, begünstigen (Tabelle IX). Ein mäßiger Karbonatgehalt scheint die Bildung der Milchsäure am meisten zu fördern (Spalte XI—XIV, Würze IV).

Die Titration gibt die Zunahme der Azidität deutlich an, entsprechend dem Gesamtgehalt an Säuren (Spalte II in Tabelle IX a mit der Spalte I, Tabelle IX). Die Werte für die Titration gegen Methylorange zeugen ebenfalls von dem Einfluß der sauren Maischwässer (Spalte III). Das Karbonatwasser in Würze I hat die Wirksamkeit der Enzyme bedeutend gehemmt. In dieser Beziehung ist auch der Einfluß der Ruhepausen für die Förderung der Enzymtätigkeit bei Würze III in die Augen fallend (Spalte III, Würze III), überragt dieser Wert doch noch die Würze II (aus gesäuertem Wasser) um fast 2,5 ccm n/10-Schwefelsäure. Daß diese Zunahme der Alkalität nicht allein auf Anreicherung der ba-

sischen Phosphate zurückzuführen ist, zeigt der Umstand, daß Würze III auch den höchsten Prozentgehalt an gebundenen organischen Säuren hat mit 6,7 ccm n/10 (Spalte V).

IV. Versuchsreihe (Fortsetzung): Schlauchbiere.

Wir kommen zu den aus diesen Würzen in Großgärung gewonnenen, sog. Schlauchbieren.

Dabei ist von vornherein darauf zu achten, daß eine absolute Reinheit der Gärung in der Praxis ausgeschlossen ist, eine mehr oder minder starke Verunreinigung der Hefen durch Bakterien ist selbstverständlich. Unter diesen befinden sich teilweise direkte Schädlinge, die durch Säurebildung (Milchsäure- oder Essigbakterien) den Säuregehalt eines Bieres wesentlich beeinflussen können; teilweise sind sie harmloser Natur, indem sie mehr als Schmarotzer die Abbauprodukte der Hefen angreifen, dadurch allerdings auch eine gewisse Änderung in der Zusammensetzung der Würze hervorrufen können; doch sind diese letzteren für die Bierbereitung die weniger schädlichen, da sie im allgemeinen bei der Gärung gar nicht zur Entwicklung kommen.

Schlauchbier I: 490 ccm Bier.

Freie Säuren:

10,55 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 11,3 ccm n/10
= 2,31 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

4,5 ccm n/10 Natronlauge (18 Stunden)
= 39,8 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

18,15 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 19,43 ccm n/10
= 3,7 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

4,3 ccm n/10 Natronlauge (18 Stunden)
= 22,1 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung konnte leider nicht ausgeführt werden, da beide Versuche mißlangen und Material zur weiteren Untersuchung nicht vorhanden war.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	8,5 ccm n/10	Na OH
Rosolsäure	14,8 „ n/10	Na OH
Methylorange	13,2 „ n/10	H_2SO_4.

Schlauchbier II: 480 ccm Bier.

Freie Säuren:

13,95 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 15,2 ccm n/10
= 3,17 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

5,2 ccm n/10 Natronlauge (22 Stunden)
= 33,5 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0848 g $BaSO_4$
= 0,0655 g Milchsäure
= 7,3 ccm n/10
= 0,0136 pCt. des Bieres
= 73,0 pCt. der fixen Säuren
= 43,1 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

24,1 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 25,8 ccm n/10
= 5,38 pCt. des Bieres:

davon flüchtige Säuren:

1,5 ccm n/10 Natronlauge (11 Stunden)
5,8 pCt. der gebundenen Säuren.

0,1344 g $BaSO_4$
= 0,1039 g Milchsäure
= 11,53 ccm n/10
= 0,0216 pCt. des Bieres
= 47,4 pCt. der fixen Säuren
= 44,7 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	9,9 ccm n/10 Na OH
Rosolsäure	13,5 „ n/10 Na OH
Methylorange	12,2 „ n/10 $H_2 SO_4$.

Schlauchbier III: 475 ccm Bier.

Freie Säuren:

20,2 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,9) = 22,0 ccm n/10
= 4,63 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

10,55 ccm n/10 Natronlauge (47 Stunden)
= 48 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

32,6 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 10,9) = 35,5 ccm n/10
= 7,47 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

3,15 ccm n/10 Natronlauge (41 Stunden)
= 8,88 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0722 g Ba SO_4
= 0,0558 g Milchsäure
= 6,2 ccm n/10
= 0,0124 pCt. des Bieres
= 54,15 pCt. der fixen Säuren
= 28,2 pCt. der freien Säuren.

0,1600 g Ba SO_4
= 0,124 g Milchsäure
= 13,78 ccm n/10
= 0,0262 pCt. des Bieres
= 22,2 pCt. der fixen Säuren
= 38,8 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	11,6 ccm n/10 Na OH
Rosolsäure	18,4 „ n/10 Na OH
Methylorange	11,0 „ n/10 $H_2 SO_4$.

Schlauchbier IV: 440 ccm.

Freie Säuren.

20,2 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 9,6) = 19,4 ccm n/10
= 4,42 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

6,2 ccm n/10 Natronlauge (30 Stunden)
= 32 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

32,1 ccm Ba $(OH)_2$ (Titer 9,6) = 30,8 ccm n/10
= 7,0 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

3,0 ccm n/10 Natronlauge
= 9,75 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0609 g Ba SO_4
= 0,0471 g Milchsäure
= 5,23 ccm n/10
= 0,0107 pCt. des Bieres
= 39,6 pCt. der fixen Säuren
= 27,0 pCt. der freien Säuren.

0,0904 g Ba SO_4
= 0,0698 g Milchsäure
= 7,75 ccm n/10
= 0,0155 pCt. des Bieres
= 27,9 pCt. der fixen Säuren
= 25,2 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres für 100 ccm ergab folgende Werte:

Lackmus	10,0 ccm n/10 Na OH
Rosolsäure	17,0 „ n/10 Na OH
Methylorange	15,8 „ n/10 $H_2 SO_4$.

Ein Vergleich dieser Schlauchbiere mit den dazugehörigen Würzen zeigt, wie sich aus den Tabellen X und X a und den dazu gehörigen Kurven in Tabelle X b ergibt, eine deutliche Zunahme der Säuren insgesamt. Entspricht diese Zunahme auch den Befunden der beiden ersten Versuchsreihen, so ist doch der Unterschied zwischen den vier verschiedenen Schlauchbieren sehr bedeutend.

Die geringste Säuremenge hat die Hefe in der Karbonatwürze erzeugen können, die lähmende Wirkung der durch die Karbonate im Brauwasser hervorgerufenen Basizität auf die enzymatischen Vorgänge und die dadurch nur sehr geringe Azidität tritt deutlich hervor. Daß dieser schädliche Einfluß aber bei mäßigem Karbonatgehalt, wie er bei Würze IV durch das Abkochen des Brauwassers hergestellt ist, vollkommen beseitigt wird, beweist die Analyse des entsprechenden Schlauchbieres (IV); konnte man bei der Würze im Zweifel sein, ob die Entfernung durch Neutralisation mit anorganischen Säuren oder das Abkochen des Brauwassers die enzymatischen Vorgänge begünstigt, so zeigen die entsprechenden Schlauchbiere II und IV (siehe Tabelle X b, 1, 2 und 5), daß sowohl der Gehalt an freier wie auch an gebundener Säure des Schlauchbieres IV den des Schlauchbieres II übertrifft. Enthält das Schlauchbier II 3,2 pCt. freie Säuren und 5 pCt. gebundene (Tabelle X, Spalte V), so hat Schlauchbier IV 4,4 pCt. freie Säuren und 7,0 pCt. gebundene Säuren (Tabelle X, Spalte V).

Im Gegensatz zu diesem Gesamtsäuregehalt steht freilich die Milchsäure, die in freiem Zustande im Schlauchbier II 0,0136 Prozent des Bieres ausmacht (= 1,5 ccm n/10), während Schlauchbier IV nur 0,011 Prozent (= 1,2 ccm n/10) davon enthält. Noch deutlicher ist der Unterschied bei der gebundenen Milchsäure, die bei Schlauchbier II 0,0216 pCt. (= 2,4 ccm n/10), bei Schlauchbier IV aber nur 0,0155 pCt. des Bieres (= 1,72 ccm n/10) ausmacht. (Tabelle X, Spalte IV).

Schlauchbier III zeigt ebenso wie Würze III den höchsten Gesamtsäuregehalt, ein Beweis, daß die hohe Azidität der Würze den Verlauf der Gärung und die Tätigkeit durchaus günstig beeinflußt hat. Denn während bei Würze IV ein etwas höherer Gehalt an freien Säuren festgestellt werden konnte als bei Würze III, enthält davon das Schlauchbier III 0,2 pCt. mehr als Schlauchbier IV (Tabelle X, Spalte V). (Vgl. auch Tabelle IX b, Kurven 1 und 2, und Tabelle X b, Kurven 1 und 2.)

Die freie Milchsäure ist indes etwas geringer als bei Schlauchbier II, 0,0107 pCt. (= 1,3 ccm n/10) gegen 0,0124 pCt. (= 1,19 ccm n/10) (Tabelle X, Spalte XIV).

Doch weist Schlauchbier III dafür einen höheren Gehalt an gebundener Milchsäure auf [0,0262 pCt. (= 2,9 ccm n/10) gegen 0,0216 pCt. (= 2,4 ccm n/10) bei Schlauchbier II], so daß die Gesamtmilchsäure des Schlauchbieres III mit 0,0378 pCt. (= 4,2 ccm n/10) die des Schlauchbieres mit 0,0351 pCt. (= 3,9 ccm n/10) um etwa 0,003 pCt. übertrifft. (Vgl. Tabelle X a, Spalte V.)

Ein Vergleich der Kurven in Tabelle IX b und X b zeigt also, daß sich die vier Schlauchbiere bezüglich ihres Gesamtsäuregehaltes ähnlich verhalten wie die Würzen, daß die freien sowohl wie die gebundenen Säuren im allgemeinen in gleichem Maße zugenommen haben, während die Milchsäurekurve, die sich für die vier Würzen in aufsteigender Linie bewegt, bei den Schlauchbieren eher ein Fallen von Würze II nach IV anzeigt.

Daß dieses Fallen der Kurven bei den Lagerbieren ebenfalls stattfindet, darauf möchte ich schon hier hinweisen.

Die in den Spalten I—III der Tabelle X enthaltenen Titrationswerte lassen die Zunahme an Säuren deutlich erkennen. Dabei fällt es auf, daß die durch Titration gegen Lackmus erhaltenen Werte ganz bedeutend stärker gewachsen sind, als die gegen Rosol-

säure erhaltenen. Diese Tatsache dürfte ein Beweis für meine Behauptung sein, daß der Mehrverbrauch gegen Rosolsäure als Indikator in der Hauptsache auf die gegen diese stärker als gegen Lackmus sauer reagierenden organischen Salze zurückzuführen ist. Ein Vergleich nämlich mit den entsprechenden Zahlen in Tabelle IX zeigt eine im Vergleich mit den Lackmuswerten erheblich geringere Zunahme an sauren Körpern, und die Menge der gebundenen Säuren ist tatsächlich auch ganz bedeutend weniger gestiegen als die freien Säuren, wie ein Vergleich der Spalten V in Tabellen IX und X ohne weiteres erkennen läßt. Wenngleich dieser Unterschied der beiden Indikatoren in bezug auf ihr Verhalten gegen die in der Würze und im Bier enthaltenen Körper außer Frage steht und sich auch einwandfrei erklären läßt, so ist es mir doch nicht gelungen, eine absolute Gesetzmäßigkeit festzustellen. Daß dies nicht möglich ist, dürfte wohl mit dem ganz verschiedenartigen Salzgehalt der einzelnen Flüssigkeiten zusammenhängen und auch wohl nur an gleichartigen Bieren (d. h. aus derselben Würze unter verschiedenen Gärbedingungen hergestellten) nachweisbar sein.

Die später noch zu besprechenden Kurventafeln XII und XIII, die die vier Biere getrennt in ihrem Verhalten von Würze über Schlauchbier zum Lagerbier darstellen, lassen diese bedeutend geringere Zunahme der gebundenen organischen Säuren ebenfalls deutlich erkennen.

Wenn nun die Titration gegen Methylorange eine deutliche Abnahme der gegen diesen Indikator alkalisch reagierenden Stoffe erkennen läßt, so ist diese Abnahme wohl hauptsächlich auf die Umwandlung der in der Würze vorhandenen basischen Phosphate zurückzuführen.

IV. Versuchsreihe (Fortsetzung): Lagerbiere.

Die Untersuchung der Lagerbiere, die nach etwa sechswöchentlicher Lagerung zum Ausstoß (Versand) kamen, ergaben folgende Resultate:

Lagerbier I. 480 ccm.

Freie Säuren:

12,5 ccm $BA(OH)_2$ (Titer 10,7) = 13,8 ccm n/10
= 2,88 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

4,8 ccm n/10 Natronlauge (27 Stunden)
= 34,8 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

22,4 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 23,95 ccm n/10
= 5 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

1,15 ccm n/10 Natronlauge (20 Stunden)
= 4,8 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0718 g $Ba SO_4$
= 0,0555 g Milchsäure
= 6,15 ccm n/10
= 0,0115 pCt. des Bieres
= 70,00 pCt. der fixen Säuren
= 46,6 pCt. der freien Säuren.

0,1300 g $Ba SO_4$
= 0,1007 g Milchsäure
= 11,2 ccm n/10
= 0,021 pCt. des Bieres
= 49,2 pCt. der fixen Säuren
= 46,7 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	7,50 ccm n/10	$Na OH$
Rosolsäure	12,50 „ n/10	$Na OH$
Methylorange	12,00 „ n/10	$H_2 SO_4$.

Lagerbier II: 480 ccm.

Freie Säuren:

17,0 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 18,2 ccm n/10
= 3,79 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

3,8 ccm n/10 Natronlauge (28 Stunden)
= 20,9 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

20,6 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 22,05 ccm n/10
= 4,60 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

1,2 ccm n/10 Natronlauge (14 Stunden)
= 5,45 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0504 g $BaSO_4$
= 0,0365 g Milchsäure
= 4,06 ccm n/10
= 0,0076 pCt. des Bieres
= 28,2 pCt. der fixen Säuren
= 22,3 pCt. der freien Säuren.

0,1026 g $BaSO_4$
= 0,0783 g Milchsäure
= 8,27 ccm n/10
= 0,0155 pCt. des Bieres
= 39,68 pCt. der fixen Säuren
= 37,50 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	9,0 ccm n/10 NaOH
Rosolsäure	14,4 „ n/10 NaOH
Methylorange	11,00 „ n/10 H_2SO_4.

Lagerbier III. 500 ccm.

Freie Säuren:

17,0 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 18,2 ccm n/10
= 3,65 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

10,1 ccm n/10 Natronlauge (27 Stunden)
= 55,5 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

19,1 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 20,4 ccm n/10
= 4,25 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

1,1 ccm n/10 Natronlauge (14 Stunden)
= 4,95 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0722 g $BaSO_4$
= 0,0557 g Milchsäure
= 6,2 ccm n/10
= 0,0116 pCt. des Bieres
= 76,5 pCt. der fixen Säuren
34,0 pCt. der freien Säuren.

0,0968 g $BaSO_4$
= 0,0748 g Milchsäure
= 8,3 ccm n/10
= 0,0156 pCt. des Bieres
43,0 pCt. der fixen Säuren
= 40,7 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	9,2 ccm NaOH
Rosolsäure	16,8 „ NaOH
Methylorange	10,4 „ H_2SO_4.

Lagerbier IV. 760 ccm.

Freie Säuren:	Gebundene Säuren:
26,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 28,7 ccm n/10 = 3,8 pCt. des Bieres;	19,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,7) = 20,9 ccm n/10 = 2,75 pCt. des Bieres;
davon flüchtige Säuren:	davon flüchtige Säuren:
19,8 ccm n/10 Natronlauge (25 Stunden) = 69,0 pCt. der freien Säuren.	3,4 ccm n/10 Natronlauge (23 Stunden) = 16,3 pCt. der gebundenen Säuren.
Die Milchsäurebestimmung ergab:	
0,0661 g $BaSO_4$	0,1151 g $BaSO_4$
= 0,0511 g Milchsäure	= 0,0834 g Milchsäure
= 5,68 ccm n/10	= 9,27 ccm n/10
= 0,0067 pCt. des Bieres	= 0,0110 pCt. des Bieres
= 63,8 pCt. der fixen Säuren	= 53,0 pCt. der fixen Säuren
= 19,8 pCt. der freien Säuren.	= 43,3 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	8,2 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	15,6 „	n/10 Na OH
Methylorange	12,2 „	n/10 H_2SO_4.

Diese Untersuchungen, deren Ergebnisse ich in Tabellen XI, XI a zusammengestellt und in Tabelle XI b graphisch dargestellt habe, lassen vor allem anderen deutlich die ausgleichende Wirkung der Nachgärung und Lagerung erkennen. Dieser Ausgleich wird bewirkt entweder durch eine Zunahme des Säuregehaltes (bei den Bieren mit niedrigem Gehalte) oder durch eine Abnahme (bei denen mit hohem Gehalte). Deutlich läßt dieses vor allem die Kurve in Tabelle X, 5, die ein Bild der Gesamtsäure gibt, erkennen, nach der der Säuregehalt der vier Biere fast ganz gleich geworden ist, so sehr sich die vier Würzen und auch die Schlauchbiere noch unterschieden.

Im einzelnen zeigt sich, daß die freien Säuren bei den Lagerbieren III und IV etwas zurückgegangen sind, während sie bei den Bieren I und II noch um etwa 0,5 pCt. gestiegen sind. Die gebundenen Säuren dagegen sind bis auf Bier I alle zurückgegangen, und zwar am stärksten bei Bier IV, das gleichzeitig die höchste Zunahme an freien Säuren zeigt. Wenn man nach dem Gehalt an freien Säuren auf die geschmackliche Güte des Bieres einen Schluß ziehen darf, so kann man wohl sagen, daß die natürlichste und einfachste Verbesserung des Brauwassers, nämlich das Abkochen, am günstigsten für das herzustellende Bier ist.

Die fallende Tendenz der Milchsäurekurve, auf die ich schon bei den Schlauchbieren hinwies, tritt auch hier deutlich hervor, namentlich bei der gebundenen Milchsäure, wie die Kurve Tabelle XI b, 4 zeigt. Eine Erklärung für diese Erscheinung konnte ich nicht finden. Denn wenn in der Würze I, die infolge des Karbonatgehaltes des Maischwassers wohl am meisten sekundäre Phosphate enthalten haben muß, die meiste gebundene Milchsäure vorhanden ist, so hätte sich Würze IV, die doch auch mit einem Wasser mit wenn auch wesentlich geringerem Karbonatgehalt hergestellt ist, ähnlich verhalten müssen, d. h. es hätte das daraus hergestellte Bier einen größeren Gehalt an gebundener Milchsäure haben müssen, als die Biere II und III, deren Brauwasser vollkommen neutralisiert war.

Die Titration der Biere gegen Lackmus

zeigt in allen Fällen einen Rückgang der Azidität der Lagerbiere gegenüber den Schlauchbieren; dies entspricht bei Bier III und IV auch den Befunden, bei diesen ist auch der Rückgang am größten. Bei Bier I und II, die beide eine geringe Zunahme der freien Säuren zeigen, ist der Rückgang der Lackmusazidität weniger stark (von 8,5 ccm n/10 auf 7,5 ccm und von 9,9 ccm auf 9,0 ccm, bei Bier II und IV aber von 11,6 ccm auf 9,2 ccm und von 10,0 ccm auf 8,2 ccm).

Diese Versuche mit den Bieren der A. M.-Brauerei sind insofern lehrreich, als die gewöhnlichen Lagerbiere dieser Brauerei mit einem Karbonatwasser hergestellt werden, wie es für Brauereien, die ein helles Lagerbier herstellen, wohl einzig dasteht. Es eignet sich daher dieser Betrieb ganz besonders dazu, die Unterschiede zwischen einem Karbonatbier und einem Bier, das mit einem mittels Mineralsäuren entkarbonisierten Wasser hergestellt war, festzustellen, zugleich aber konnte durch einen weiteren Versuch die aziditätserhöhende Wirkung der sog. Eiweißrast näher beleuchtet und in Vergleich sowohl mit dem Karbonatbier als auch mit dem „verbesserten" Bier gestellt werden.

Für den Geschmack kommen neben den Eiweißkörpern und den unvergorenen Dextrinen sowie den Hopfenbitterstoffen hauptsächlich die freien organischen Säuren in Frage, da diese in erster Linie die Rezens eines Bieres bewirken. Zwar könnte man vermuten, daß auch die sauren Phosphate eine geschmackgebende Rolle spielen, doch glaube ich auf Grund vorgenommener Geschmacksproben mit wässerigen Lösungen von organischen Säuren und primärem Phosphat diese aus der Zahl der geschmackveredelnden Stoffe streichen zu müssen. Es bleiben also nur die organischen Säuren übrig.

Es ergibt sich also aus den vier Versuchen, daß zwar die Entfernung der Karbonate ganz allgemein aziditätserhöhend wirkt, daß aber alle künstlichen Mittel gegenüber dem natürlichsten, d. h. dem Abkochen, im Nachteil sind, ganz abgesehen davon, daß durch die mineralsauren Salze und deren Umsetzungen mit den Phosphaten der Würze Stoffe in das Bier gelangen, die keinesfalls geschmackveredelnd wirken können; namentlich kommen hier die Sulfate des Magnesiums und der Alkalien, bzw. die entsprechenden Salze der Salzsäure in Frage.

V. Versuchsreihe: Neutralisierte Brauwässer.

Neben diesen Versuchen mit den Bieren der A. M.-Brauerei habe ich dann noch eine Reihe von Schlauchbieren und den zugehörigen Lagerbieren einer anderen Brauerei, die ich als St. M. bezeichnet habe, untersucht. Es schien mir von Interesse zu sein, zu sehen, wie sich Biere aus einem Brauwasser mit niedrigerem Karbonatgehalt, das ebenfalls mit Mineralsäuren entkarbonisiert war, verhalten.

Die mir zur Untersuchung freundlichst zur Verfügung gestellten Biere waren folgendermaßen hergestellt:

Das Brauwasser zu Bier IV, das keiner Veränderung unterworfen ist, enthält etwa 17 g Karbonate. Das Brauwasser für Bier II ist mittels Schwefelsäure neutralisiert, während es für Bier I mit Salzsäure entkarbonisiert war. Für Bier III war als Einmaischwasser das Nachgußwasser vom Tage vorher genommen, das während des Stehens über Nacht säuerlich geworden war. Benutzt war für alle vier Sude Malz aus Gerste derselben Provenienz, die nach demselben Verfahren gemälzt war. Auch die Hopfengabe war in allen Fällen dieselbe.

Die Zusammensetzung der Biere war folgende:

Schlauchbiere und Lagerbiere der St. M.-Brauerei.

Schlauchbier I (Chloridbier). 475 ccm.

Freie Säuren:

8,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 9,95 ccm n/10
= 4,98 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

4,1 ccm n/10 Natronlauge (29 Stunden)
= 41,2 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0358 g $BaSO_4$
= 0,0276 g Milchsäure
= 3,08 ccm n/10
= 52,7 pCt. der fixen Säuren
= 31,0 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

12,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 14,1 ccm n/10
= 7,05 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

0,9 ccm n/10 Natronlauge (11 Stunden)
6,38 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0840 g $BaSO_4$
= 0,0649 g Milchsäure
= 7,28 ccm n/10
= 55,1 pCt. der fixen Säuren
= 51,6 pCt. der gebundenen Säuren

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	15,0 ccm	n/10 NaOH
Rosolsäure	24,0 „	n/10 NaOH
Methylorange	12,2 „	n/10 H_2SO_4

Schlauchbier II (Sulfatbier) 200 ccm.

Freie Säuren:

5,3 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 6,0 ccm n/10
= 3,0 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

2,05 ccm n/10 Natronlauge (10 Stunden)
= 34,2 pCt. der freien Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0260 g $BaSO_4$
0,0201 g Milchsäure
2,23 ccm n/10
= 56,6 pCt. der fixen Säuren
= 37,2 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

13,3 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 15,02 ccm n/10
= 7,52 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

0,55 ccm n/10 Natronlauge (12 Stunden)
= 3,64 pCt. der gebundenen Säuren.

0,0676 $BaSO_4$
0,0523 g Milchsäure
= 5,82 ccm n/10
= 40,2 pCt. der fixen Säuren
= 38,7 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres für 100 ccm ergab folgende Werte:

Lackmus	9,50 ccm	n/10 NaOH
Rosolsäure	17,6 „	n/10 NaOH
Methylorange . . .	11,50 „	n/10 H_2SO_4

Schlauchbier III (Karbonatwasser und Nachgußwasser) 500 ccm.

Freie Säuren:

26,25 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 28,60 ccm n/10
= 5,7 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

11,05 ccm n/10 Natronlauge (41 Stunden)
= 38,8 der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

29,0 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 10,9) = 32,8 ccm n/10
= 6,92 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

2,7 ccm n/10 Natronlauge (23 Stunden)
= 8,24 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,1324 g $BaSO_4$
= 0,1022 g Milchsäure
= 11,3 ccm n/10
= 64,7 pCt. der fixen Säuren
= 39,8 pCt. der freien Säuren.

0,1909 g $BaSO_4$
= 0,1245 g Milchsäure
= 13,85 ccm n/10
= 46,0 pCt. der fixen Säuren
= 42,2 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	13,0 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	19,4 „	n/10 Na OH
Methylorange. . . .	14,2 „	n/10 H_2OS_4

Schlauchbier IV (Karbonat) 200 ccm

Freie Säuren:
7,9 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 8,92 ccm n/10
= 4,46 pCt. des Bieres;
davon flüchtige Säuren:
4,25 ccm n/10 Natronlauge (30 Stunden)
= 47,7 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:
15,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 17,84 ccm n/10
8,92 pCt. des Bieres.
davon flüchtige Säuren:
0,65 ccm n/10 Natronlauge (11 Stunden)
= 3,65 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0404 g $BaSO_4$
= 0,0312 g Milchsäure
= 3,47 ccm n/10
= 74,2 pCt. der fixen Säuren
= 38,8 pCt. der freien Säuren.

0,0330 g $BaSO_4$
= 0,0258 g Milchsäure.
= 2,86 ccm n/10
= 16,65 pCt. der fixen Säuren
= 16,05 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	12,50 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	17,70 „	n/19 Na OH
Methylorange . . .	13,0 „	n/10 H_2SO_4

Die Analysen lassen den Einfluß der Entkarbonisierung mittels anorganischer Säuren erkennen, und zwar fällt einem beim Vergleichen der einzelnen Werte, die in Tabelle XII nochmals zusammengestellt sind, auf, daß die Schwefelsäure sehr ungünstig auf die Azidität gewirkt hat. In Kolumne V dieser Tabelle sind die Säureextrakte in Prozenten des Bieres angegeben. Während der Gehalt an freien Säuren in den Bieren I und IV ziemlich gleich ist, liegt er bei Bier II fast 2 pCt. niedriger, während er bei Bier III noch eine Zunahme um 0,7 pCt. erfahren hat.

Der Unterschied zwischen dem Chlorid- und dem Karbonatbier ist also nur unbedeutend, in bezug auf den Gehalt an freien Säuren dagegen fällt das Sulfatbier vollkommen ab, während die Säuerung des Nachgußwassers deutlich in der Erhöhung der freien Säuren bei Bier III zum Ausdruck kommt.

Die Kurve XIIb, 5 zeigt die Gesamtsäuren in den Schlauchbieren. Man erkennt auch hier deutlich, daß die Schwefelsäure ungünstig auf die Säurebildung gewirkt hat, während die Säuerungen mit Salzsäure und die mit dem sauren Nachgußwasser in ihren Wirkungen ziemlich gleich sind.

Der Gehalt an gebundenen Säuren ist bei Bier I—III ziemlich derselbe, während Bier IV fast 2 pCt. mehr enthält. Naturgemäß zeigt sich hier noch auffälliger als bei den freien Säuren der Einfluß des Entkarbonisierens durch Säurezusatz, denn auch das verwendete Nachgußwasser, das ja über Nacht gesäuert hatte, diente zum Säuern der Maische. Dagegen ist bei Bier IV deutlich der Karbonatgehalt des Brauwassers an den verhältnismäßig großen Mengen gebundener Säuren zu erkennen.

Aus den Kurven, die ich nach diesen Ergebnissen aufgestellt habe (siehe Tabelle XIIb, 1—4), sind die Unterschiede dieser vier Biere deutlich zu erkennen. Kurve 1 zeigt bei Bier II ein starkes Abfallen, während die Punkte I, III und IV ziemlich auf gleicher Höhe liegen. Die Kurve 2 steigt nach Bier IV ziemlich stark.

Milchsäure in den Schlauchbieren.

Die freie Milchsäure bildet bei Bier II bis IV (Kolumne XII Tabelle XII ziemlich gleichmäßig fast 40 pCt. der freien Säuren, bei Bier I (Kolumne XII) dagegen nur 31,0 pCt. Anderseits aber finden sich unter den gebundenen Säuren bei Bier I (XII) 51 pCt. Milchsäure, so daß die Summe gebildeter Milchsäure (siehe Tabelle XII a IV) immerhin noch 40 pCt. der Gesamtsäure ausmacht. Während diese Säure nun bei Bier II und III (Kolumne XII) 39 pCt. bzw. 42 pCt. der gebundenen Säuren ausmacht, beträgt der Gehalt daran bei Bier IV nur 16 pCt. Es ergibt sich also, wie Tabelle XII a in Kolumne IV erkennen läßt, folgendes Bild von der Bildung der Milchsäure neben den anderen Säuren während der Hauptgärung. Beim Chloridbier beträgt die Milchsäure 40 pCt. der Gesamtsäure, beim Sulfatbier dagegen 38 pCt., im Karbonat- und Nachgußbier fast 58 pCt., ist also bedeutend gestiegen, und in Bier IV endlich macht sie nur 23,6 pCt. der gesamten organischen Säuren aus.

Man kann aus diesen Zahlen ohne weiteres den Einfluß des Brauwassers und seiner Salze auf die Zusammensetzung der Würze und damit auf die Tätigkeit der Hefe ersehen.

Denn während der Gehalt an Gesamtmilchsäure bei den beiden Bieren, deren Brauwasser mit Mineralsäure neutralisiert war, sich fast gleichkommt, wobei das Chloridbier etwas mehr enthält, hat das saure Nachgußwasser bei Bier III eine starke Zunahme bewirkt. Es läßt sich nicht mehr entscheiden, ob diese Zunahme der Gesamtmilchsäure dem Milchsäuregehalt des Nachgußwassers entsprechen würde, auch nicht, ob das Nachgußwasser überhaupt Milchsäure enthalten hat, jedenfalls hat aber dessen Säuregehalt zur Erhöhung der Milchsäure wesentlich beigetragen.

Bier IV dagegen läßt deutlich den ungünstigen Einfluß der alkalischeren Würzen erkennen, denn der Gehalt der Gesamtsäure an Milchsäure bildet nur wenig mehr als die Hälfte an dem Betrage der übrigen Biere.

Noch deutlicher tritt dieser Unterschied hervor, wenn man die gefundene Menge Gesamtmilchsäure auf n/10 ccm umrechnet und in Prozent des Bieres ausdrückt (siehe Tabelle XII a, VI). Danach enthält Bier III mit 25,2 pCt. weitaus die meiste Milchsäure, ihm folgt Bier I, dann kommt Bier II und am schlechtesten schneidet das Karbonatbier IV ab.

Die Titration der Schlauchbiere.

Die Titration der vier Schlauchbiere läßt deutlich den geringeren Säuregehalt bei Bier II (Tabelle XII, Kolumne I) gegenüber den drei anderen Bieren erkennen, denn nicht nur die Säurezahl gegen Lackmus ist die niedrigste, sondern auch die Titration gegen Rosolsäure ebenso wie gegen Methylorange zeigen weniger freie bzw. gebundene organische Säuren an. Während aber bei Bier I eine

höhere Azidität durch die primären Phosphate hervorgerufen ist, die infolge der Neutralisation des Maischwassers mit Salzsäure sich während der Maische bilden mußten, wird ein weit größerer Anteil an der Azidität des Bieres III durch die organischen Säuren geliefert, die durch das saure Nachgußwasser in die Maische und die Würze gelangt sind.

Wenn aber trotz des höheren Gehaltes an freien Säuren Bier III eine größere Alkalität zeigt als Bier I, so ist das ein Zeichen, daß sich bei der Maische schon eine Menge organischer Salze gebildet hat.

Bei Bier IV endlich, das in bezug auf freie Säuren besser abschneidet als Bier II, trotzdem es aus der Karbonatwürze stammt, unterscheidet sich in seiner Azidität gegen Lackmus nur um 0,5 ccm n/10-Natronlauge von dem Bier III, das die meisten freien Säuren hat. Es müssen hier ebenfalls die primären Phosphate eine Rolle spielen, die in größerer Menge erst während der Gärung gebildet sind, während die Würze infolge des Karbonatgehaltes des Brauwassers größere Mengen sekundäre Phosphate enthalten hat.

Aus dem Umstande aber, daß Bier IV trotz des höheren Gehaltes an gebundenen Säuren eine geringere Alkalität als Bier III hat, glaube ich auf das Vorhandensein saurer Salze schließen zu dürfen, da mir die Anwesenheit einer größeren Anzahl Ionen in dem Bier mit geringeren Mengen gebundener organischer Säuren sonst nicht erklärlich ist.

Zum Schluß möchte ich hier wieder auf das „Säuremilieu" hinweisen, das sich die Hefe schafft, denn die Summe der Säuren, die sich während der Gärung gebildet haben, ist bei Bier IV, trotzdem dieses aus Karbonatwasser hergestellt ist, ebenso groß als bei Bier III. Daß aber auch die Art der Säuren auf die Hefe von Einfluß ist, glaube ich aus dem Umstand schließen zu dürfen, daß das mit Schwefelsäurewasser hergestellte Bier bei weitem die geringste Säuremenge gebildet hat und in der Azidität (organische Säuren und primäre Phosphate) auch am niedrigsten bleibt. Daß sich dasselbe Bild auch bei den Lagerbieren zeigt, darauf möchte ich schon hier verweisen.

V. Versuchsreihe (Fortsetzung):

Lagerbiere.

Um auch bei diesen Schlauchbieren der St. M.-Brauerei das Verhalten auf dem Lagerfaß feststellen zu können, zugleich aber auch, um vergleichen zu können, ob und inwieweit diese Biere sich von den A.-M.-Schlauchbieren bei der Lagerung verschieden verhalten, wurden die Lagerbiere, die aus den in der vorigen Versuchsreihe besprochenen Schlauchbieren hergestellt waren, ebenfalls untersucht. Die Untersuchungsergebnisse waren folgende:

Lagerbiere der St. M.-Brauerei.

Lagerbier I (Chloridbier): 200 ccm.

Freie Säuren:
7,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 8,8 ccm n/10
1,4 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:
4,15 ccm n/10 Natronlauge (20 Stunden)
17,2 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:
14,8 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 16,6 ccm n/10
8,3 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:
1,4 ccm n/10 Natronlauge (28 Stunden)
8,43 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0425 g $BaSO_4$
= 0,0328 g Milchsäure
= 3,6 ccm n/10
= 72,4 pCt. der fixen Säuren
= 41,0 pCt. der freien Säuren.

0,0690 g $BaSO_4$
= 0,0533 g Milchsäure
= 5,9 ccm n/10
= 38,8 pCt. der fixen Säuren
= 35,6 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres für 100 ccm ergab folgende Werte:

Lackmus	9,5 ccm	n/10 NaOH
Rosolsäure	14,6 „	n/10 NaOH
Methylorange	11,5 „	n/10 H_2SO_4

Lagerbier II (Sulfatbier): 500 ccm.

Freie Säuren:
10,2 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 11,5 ccm n/10
= 3,1 pCt. des Bieres;
davon flüchtige Säuren:
6,7 ccm n/10 Natronlauge (29 Stunden)
= 58,2 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:
19,1 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 21,6 ccm n/10
= 5,77 pCt. des Bieres;
davon flüchtige Säuren:
1,9 ccm n/10 Natronlauge (17 Stunden)
= 8,8 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0342 g $BaSO_4$
= 0,0264 g Milchsäure
= 2,9 ccm n/10
= 61,2 pCt. der fixen Säuren
= 25,5 pCt. der freien Säuren.

0,0836 g $BaSO_4$
= 0,0646 g Milchsäure
= 7,18 ccm n/10
= 36,4 pCt. der fixen Säuren
= 33,2 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	9,6 ccm	n/10 NaOH
Rosolsäure	16,0 „	n/10 NaOH
Methylorange	11,0 „	n/10 H_2SO_4.

Lagerbier III (Nachgußwasser): 200 ccm.

Freie Säuren.
8,4 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 9,5 ccm n/10
1,75 pCt. des Bieres;
davon flüchtige Säuren:
4,1 ccm n/10 Natronlauge
= 43,3 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren.
11,5 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 13,0 ccm n/10
= 6,5 pCt. des Bieres;
davon flüchtige Säuren:
0,8 ccm n/10 Natronlauge
6,15 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0315 g $BaSO_4$
= 0,0243 g Milchsäure
= 2,7 ccm n/10
50,0 pCt. der fixen Säuren
= 28,4 pCt. der freien Säuren.

0,0580 g $BaSO_4$
= 0,0448 g Milchsäure
= 4,98 ccm n/10
= 40,9 pCt. der fixen Säuren
= 38,2 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres für 100 ccm ergab folgende Werte:

Lackmus	9,2 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	23,0 „	n/10 Na OH
Methylorange	11,1 „	n/10 $H_2 SO_4$.

Lagerbier IV (Karbonatbier): 200 ccm.

Freie Säuren:

9,2 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 10,4 ccm n/10
= 5,2 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

3,6 ccm n/10 Natronlauge
= 34,6 pCt. der freien Säuren.

Gebundene Säuren:

16,4 ccm $Ba(OH)_2$ (Titer 11,3) = 18,5 ccm n/10
= 9,25 pCt. des Bieres;

davon flüchtige Säuren:

1,35 ccm n/10 Natronlauge
= 7,29 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Milchsäurebestimmung ergab:

0,0276 g $Ba SO_4$
= 0,0213 g Milchsäure
= 2,37 ccm n/10
= 34,8 pCt. der fixen Säuren
= 22,8 pCt. der freien Säuren.

0,0675 g $Ba SO_4$
= 0,0522 g Milchsäure
= 5,8 ccm n/10
= 33,8 pCt. der fixen Säuren
= 31,4 pCt. der gebundenen Säuren.

Die Titration des Bieres ergab für 100 ccm folgende Werte:

Lackmus	9,8 ccm	n/10 Na OH
Rosolsäure	16,8 „	n/10 Na OH
Methylorange	10,8 „	n/10 $H_2 SO_4$.

Ein Vergleich der Lagerbiere mit den zugehörigen Schlauchbieren, der an Hand der Tabellen XII und XIII und XIII b leicht möglich ist, zeigt im Gesamtsäuregehalt kein gleichmäßiges Bild. Während das Chloridbier I noch eine Zunahme der Gesamtsäure um 0,7 pCt. (XII a bzw. XIII a, Kolumne II) aufweist, geht diese bei dem Sulfatbier um 2,3 pCt. zurück. Um denselben Prozentsatz (um 2,3 pCt.) geht die Gesamtsäure auch bei Bier III zurück, das aus der mit saurem Nachgußwasser hergestellten Würze stammt; dagegen steigt der Gehalt bei dem Bier aus Karbonatwasser um 1,1 pCt., nimmt also bei weitem am stärksten zu.

Die freien Säuren verhalten sich durchaus nicht analog den Gesamtsäuren. Bei Bier I gehen sie um 0,6 pCt. zurück, bei Bier III um 0,9 pCt. Dagegen bleiben sie bei Lagerbier II gleich dem Schlauchbier II, während sie allein bei Bier IV deutlich zunehmen (0,7 pCt.).

Da sowohl der Gehalt an freien Säuren, wie auch die Azidität gegen Lackmus und Rosolsäure und die Alkalität gegen Methylorange bei Bier II in Schlauch- und Lagerbier fast völlig übereinstimmen, während nur der Gehalt an gebundenen Säuren um 1,7 pCt. bei der Lagerung gefallen ist, so scheint es mir von Interesse zu sein, das Verhalten der einzelnen Säuregruppen und ihre Verschiebungen bei der Lagerung ein wenig zu verfolgen.

Während bei dem Schlauchbier II die flüchtigen Säuren unter den freien nur 34,2 pCt. ausmachen, sind im Lagerbier 58,2 pCt. der freien Säuren flüchtig. Dementsprechend sind unter den freien Säuren des Schlauchbieres 65,8 pCt. fixe, und unter denen des Lagerbieres nur 41,8 pCt. fixe. Von diesen freien und fixen Säuren des Schlauchbieres sind 56,6 pCt. Milchsäure, während beim Lagerbier 61,2 pCt. Milchsäure unter ihnen ist. Mithin zeigt sich hier ganz

deutlich die schon früher beobachtete Erscheinung, daß die Milchsäure während der Lagerung aus ihren Salzen verdrängt wird.

Da nun aber, wie aus Tabelle XII a bzw. XIII a, Kolumne V ersichtlich ist, die Milchsäure insgesamt um 1,3 pCt. des Bieres abgenommen hat, was einem prozentualen Rückgang von den Gesamtsäuren von 38,4 — 30,6 = 7,8 pCt. entspricht, so ist ersichtlich, daß sie in Wirklichkeit in noch größerem Maße aus ihren Salzen verdrängt wird, als aus obigen Zahlen direkt hervorgeht.

Daß die Milchsäure namentlich dann, wenn sie im Schlauchbier insgesamt in Mengen von mehr als etwa 4 ccm n/10 pro 100 pCt. Bier vorhanden ist, d. h. sich schon während der Hauptgärung in größeren Mengen hat bilden können, während der Lagerung abnimmt, ersieht man sofort bei Vergleich der Kolumne XIII und XIV der Tabelle XII und XIII. Bei den freien Säuren sowohl wie bei den gebundenen Säuren der Biere I bis III nehmen die Werte beim Lagerbier stets ab, die Gesamtmilchsäure dieser drei Biere liegt oberhalb jener genannten Grenze (siehe Tabelle XII a, Kolumne V). Dagegen nimmt die Milchsäure bei Bier IV, bei dem sie weniger als 4 ccm n/10 pro 100 ccm Bier beträgt (siehe Tabelle XII a, Kolumne V), während der Lagerung beträchtlich zu (von 3,2 pCt. bis 4,1 pCt.).

Dieser Neubildung von Milchsäure bei der Lagerung entspricht auch die ganz andere Rolle, die sie in solchen Bieren spielt. Während sie, wie oben gezeigt, in Bier I und II aus ihren Salzen durch stärkere Säuren beim Lagern des Bieres verdrängt wird und daher im Schlauchbier einen kleineren Prozentsatz der freien Säuren bildet als beim Lagerbier, ist es beim Bier IV (Karbonat) umgekehrt. Hier macht sie 74,2 pCt. der freien fixen Säuren und 38,8 pCt. der freien Säuren überhaupt aus, während sie beim Lagerbier nur noch 34,8 bzw. 22,8 pCt. ausmacht. Und ebenso sind auch beim Schlauchbier unter den gebundenen fixen Säuren nur 16,7 pCt. Milchsäure und 16,1 pCt. Milchsäure unter den gebundenen Säuren überhaupt, während die entsprechenden Werte beim Lagerbier 33,8 bzw. 31,4 pCt. sind. Und ebenso sind bei diesem Schlauchbier IV 1,2 ccm n/10 ccm pro 100 ccm Bier freie Milchsäure und 1,4 ccm n/10 pro 100 ccm Bier gebundene Milchsäure, während beim Lagerbier IV nur 1,2 ccm n/10 pro 100 ccm freie und dafür 2,9 ccm n/10 pro 100 ccm Bier vorhanden sind.

Titration der Lagerbiere.

Aus den in Tabelle XIII, Kolumne I zusammengestellten Zahlen, die durch Titration der Biere gegen Lackmus erhalten sind, geht scheinbar ein Ausgleich der Azidität der Biere untereinander während der Lagerung hervor. Die erhaltenen Werte gehen nur um 0,6 ccm n/10-Natronlauge auseinander; aber auch hier decken sie sich insofern nicht mit dem Säuregehalt der Biere, als dem höchsten Titrationswert nicht auch der höchste Gehalt an freier Säure entspricht.

Auch die Titration gegen Rosolsäure zeigt eine Ausgeglichenheit der Biere in ihrer Azidität.

Der für Bier III erhaltene Wert 23,0 ccm n/10-Natronlauge fällt vollkommen aus dem Rahmen, eine Erklärung für diese Ausnahme ist nicht vorhanden.

Die Werte der Titration mit n/10-Säure gegen Methylorangen zeigen ebenfalls eine auffallende Ähnlichkeit, während doch der Gehalt an gebundenen Säuren ganz erheblich schwankt.

Es erhellt also aus diesen Titrationswerten, daß auf Grund der durch direkte Titration eines Bieres nur sehr unvollkommene Schlüsse auf den Säuregehalt und die Zusammensetzung eines Bieres bezüglich der verschiedenen Säuregruppen gezogen werden können.

Zusammenfassung.

Als Ergebnis dieser Arbeit, die als erster Teil einer größeren Abhandlung über die gesamte Säurefrage der Brauerei angesehen werden muß und deren Fortsetzung ich schon seit geraumer Zeit betreibe, fasse ich kurz folgende Hauptpunkte zusammen:

Die Untersuchung von Würzen und Bieren auf organische Säuren nach den in der Weinanalyse üblichen Methoden ist ohne weiteres nicht möglich, da die vorkommenden Mengen erheblich kleiner sind als beim Wein.

Die Extraktion genannter Flüssigkeiten mittels des von mir umgeänderten Perforators nach Partheil-Rose ist durchführbar, und somit ist die Zerlegung der darin vorhandenen Säuren in freie und gebundene Säuren möglich.

Zur Verfolgung der Säurebildung bei der Gärung ist auch die Bestimmung der gebundenen Säuren von Wichtigkeit. Die Zerlegung der Gesamtsäure in die beiden Faktoren: freie und gebundene Säuren ist für die Kenntnis der Säureverhältnisse unerläßlich.

In der Würze ist die Menge freier Säuren so gering, daß sie nur ungenau bestimmbar ist, während gebundene Säuren in beträchtlichen Mengen vorhanden sind.

Im halbfertigen (schlauchreifen) sowie im fertigen Bier sind erhebliche Mengen freier wie gebundener Säuren vorhanden.

Die Summe dieser beiden Komponenten ist größer als die in der Würze vorhandenen Gesamtsäuren, es liegt also auch bei der Bierhefegärung eine Säurebildung vor. Die gebildete Säuremenge ist für eine Heferasse eine bestimmte Größe, die Hefe sucht sich ihr „Säuremilieu" zu schaffen.

Die beim Lagern des Weines beobachtete Abnahme der Säuren findet auch beim Lagern des Bieres statt. Sie ist sowohl für verschiedene Heferassen, wie für Würzen verschiedener Zusammensetzung bezüglich der „nichtzuckerartigen" Extraktivstoffe verschieden stark, und es kann sogar umgekehrt eine Zunahme eintreten (A.-M.-Karbonatbier). Eine Heferasse sucht in Würzen mit verschiedenem Gehalt an Extraktivstoffen (außer Zucker) stets dasselbe Säuremilieu zu bilden.

Der Säuregehalt eines Bieres hängt ab:

1. von dem verwendeten Malz,
2. vom Karbonat- und Sulfatgehalt des Brauwassers,
3. vom Maischverfahren,
4. von der Heferasse,
5. von der Behandlungsweise des halbfertigen Produktes während der Lagerung.

Von den flüchtigen Säuren findet sich der Hauptanteil unter den freien, von den fixen Säuren der Hauptanteil unter den gebundenen Säuren.

Die Milchsäure nimmt bezüglich ihrer Stärke eine Mittelstellung zwischen den im Bier vorkommenden flüchtigen und fixen Säuren ein. Sie ist zu etwa einem Drittel der Gesamtmenge unter der freien und zu

etwa zwei Dritteln unter den gebundenen Säuren.

Sie ist mit Hilfe der Vakuumdampfdestillation als fixe Säure quantitativ leicht zu bestimmen.

Die Titration von Würze und Bier gegen Indikatoren wie Lackmus, Phenolphthalein, Rosolsäure, Methylorange läßt keine Schlußfolgerungen auf den tatsächlichen Säuregehalt zu. Lackmus dürfte insofern die „Azidität" einer solchen Flüssigkeit am ehesten angeben, als es gegen die in dieser vorkommenden Körper, die gegen synthetische Farbstoffe sauer reagieren (genuine und Azidalbumine), ziemlich unempfindlich ist.

Die phosphorsauren Salze des Gerstenkornes sind für alle Vorgänge der Würze- und der Bierbereitung von größter Wichtigkeit. Sie paralysieren nicht nur die schädliche Wirkung der Karbonate des Brauwassers und wirken azidität erhöhend mit den Sulfaten der Erdalkalien, sondern sie regeln auch den ganzen Chemismus der Zuckerspaltung durch Enzyme.

Tabelle IV. **V. L. B.-Würze. — Ungehopft.**

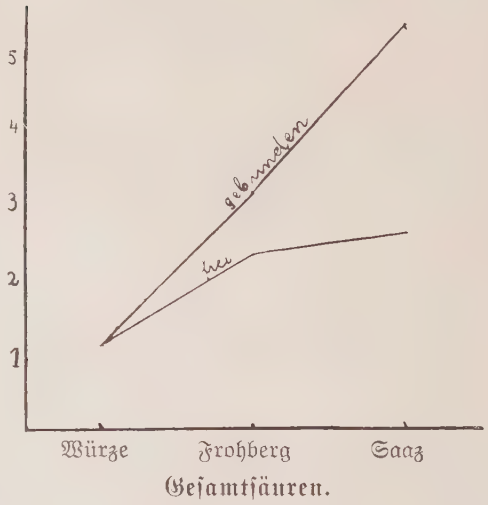
Direkte Titration ccm n/10 Lackmus	Direkte Titration ccm n/10 Rosolsäure	Direkte Titration ccm n/10 Methylorange	Summa ccm n/10 $Ba(OH_2)$	In pCt. der Würze bzw. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie, bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm	ccm n/10 Milchsäure in 100 ccm	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
4,9	9,50	17,8	3,82	1,1	1,4	36,7	2,42	63,3	1,03	43,0	27,0	0,0027	0,3	Würze.
9,4	17,1	19,8	9,85	2,3	5,2	52,8	4,65	47,2	2,65	57,1	27,0	0,0111	1,2	Hefe Frohberg.
8,5	16,0	14,5	5,13	2,6	2,1	41,0	3,03	59,0	2,18	72,0	42,5	0,0098	1,1	Hefe Saaz.
Gebundene Säuren.														
4,9	9,5	17,8	3,9	1,12	0,9	23,0	3,0	77,0	2,5	83,4	64,1	0,0063	0,7	Würze.
9,4	17,1	19,8	13,3	3,1	1,7	12,8	11,6	87,2	4,6	41,5	39,0	0,0201	2,2	Hefe Frohberg.
8,5	16,0	14,5	10,66	5,3	1,4	13,2	9,2	86,7	3,5	38,1	33,0	0,0158	1,8	Hefe Saaz.

Tabelle IVa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

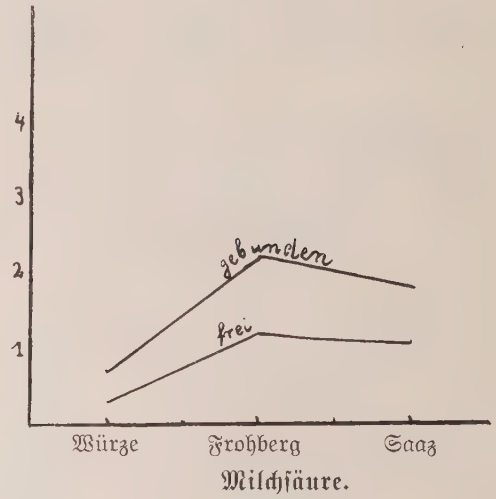
Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. der Würze bzw. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. der Würze bzw. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
7,72	2,2	3,5	45,7	1,1	Würze.
23,15	5,4	7,3	31,3	3,4	Hefe Frohberg.
15,73	7,9	5,7	36,1	2,8	Hefe Saaz.

V. L. B.-Würze. — Ungehopft (Schlauchbiere).

Hefen Frohberg und Saaz.



Gesamtsäuren.



Milchsäure.

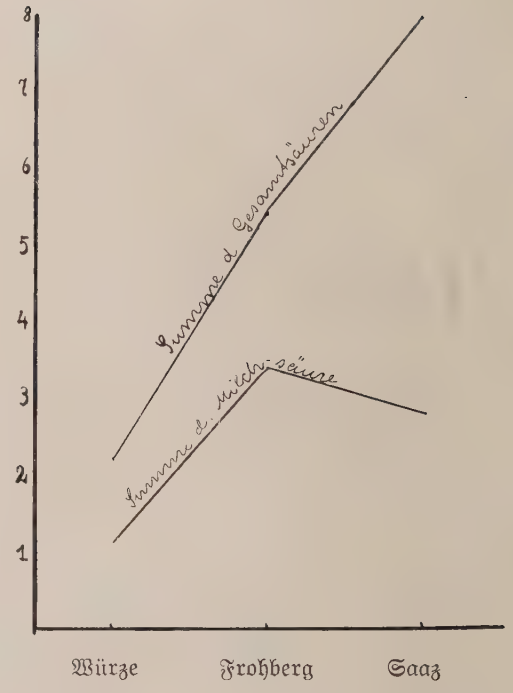


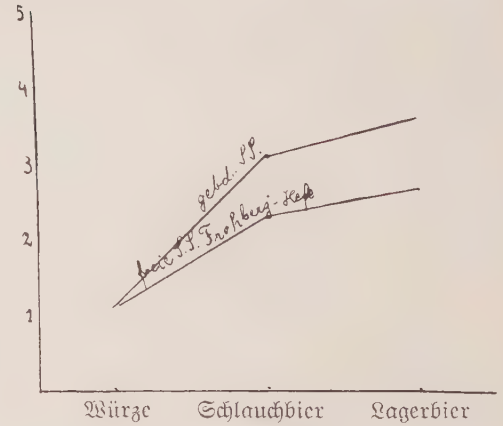
Tabelle IVb. ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

Tabelle V. **V. L. B.-Würze. — Ungehopft. Lagerbiere.**

Direkte Titration ccm n/10			Summa ccm n/10 $Ba(OH_2)$	In pCt. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm	ccm n/10 Milchsäure in 100 ccm	Bemerkungen
Lackmus	Rosolsäure	Methylorange												
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
8,5	16,3	18,6	7,4	2,7	2,3	42,7	3,1	57,3	2,12	68,5	39,2	0,0095	1,06	Hefe Frohberg.
8,2	14,8	13,4	4,4	2,2	2,0	45,0	2,4	54,7	1,90	75,5	43,0	0,0086	0,95	Hefe Saaz.
Gebundene Säuren.														
8,5	16,3	18,6	7,2	3,6	0,75	10,4	6,45	89,6	2,88	44,5	40,0	0,0129	1,44	Hefe Frohberg.
8,2	14,8	13,4	9,2	4,6	0,90	9,8	8,30	90,4	2,48	29,8	27,0	0,0112	1,24	Hefe Saaz.

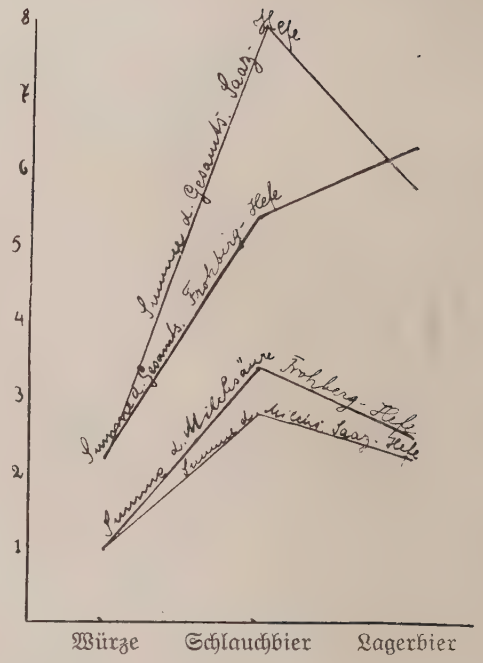
Tabelle Va. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

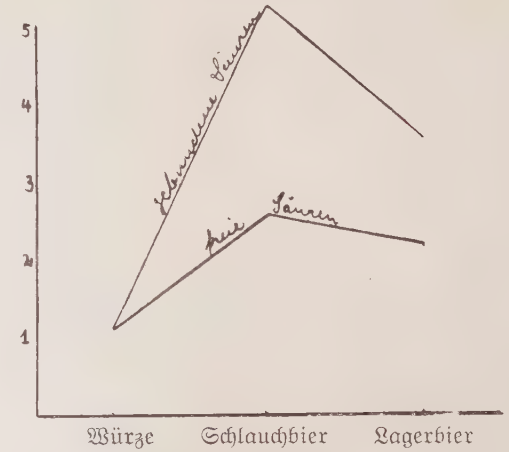
Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
12,6	6,3	5,08	32,4	2,54	Hefe Frohberg.
13,62	6,8	4,38	32,2	2,19	Hefe Saaz.



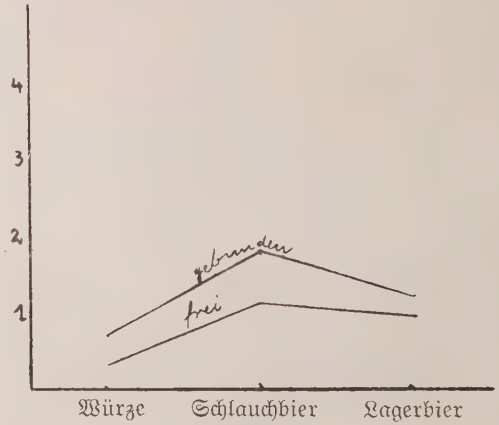
Frohberg-Hefe.
Gesamtsäuren.

Frohberg-Hefe.
Milchsäure.





Saaz-Hefe.
Gesamtsäuren.



Saaz-Hefe.
Milchsäure.

Tabelle Vb.

ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

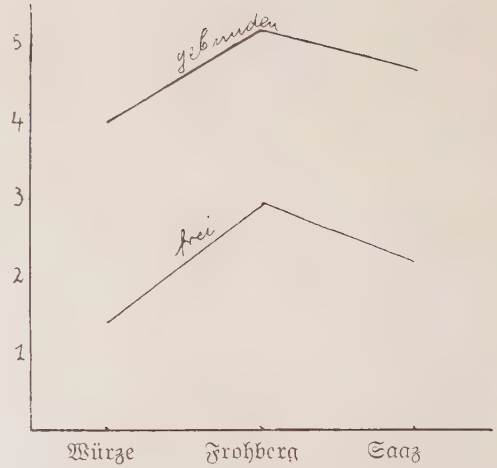
Tabelle VI. **V. L. B.-Würze. — Gehopft.**

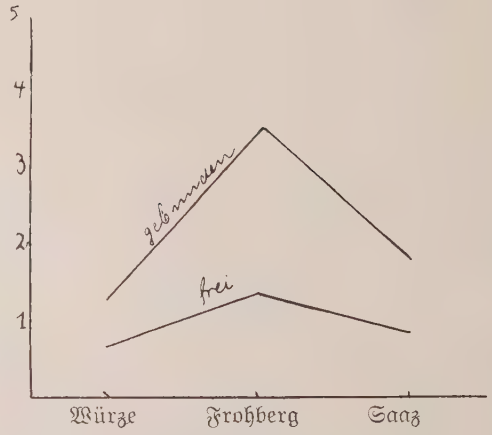
Direkte Titration ccm n/10 Lackmus (I.)	Direkte Titration ccm n/10 Rosolsäure (II.)	Direkte Titration ccm n/10 Methylorange (III.)	Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$ (IV.)	In pCt. der Würze bzw. des Bieres (V.)	Davon flüchtige Säuren n/10 (VI.)	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren (VII.)	Davon fixe Säure n/10 (VIII.)	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren (IX.)	Milchsäure ccm n/10 (X.)	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren (XI.)	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren (XII.)	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm (XIII.)	ccm n/10 Milchsäure in 100 ccm (XIV.)	Bemerkungen
Freie Säuren.														
—	—	—	2,72	1,36	0,80	29,4	1,92	70,6	1,21	63,0	44,5	0,0061	0,67	Würze.
9,0	16,4	19,2	5,9	2,95	2,6	44,2	3,3	55,8	2,83	85,7	49,7	0,0128	1,43	Hefe Frohberg.
8,0	16,1	13,2	4,9	2,23	2,2	44,8	2,7	55,2	1,99	73,8	40,7	0,0082	0,91	Hefe Saaz.
Gebundene Säuren.														
—	—	—	7,97	3,98	0,9	11,3	7,07	88,7	2,51	35,6	31,6	0,0113	1,26	Würze.
9,0	16,4	19,2	10,35	5,17	0,35	3,4	10,0	96,6	6,5	65,0	62,8	0,0316	3,52	Hefe Frohberg.
8,0	16,1	13,2	10,25	4,65	0,7	6,83	9,55	93,2	3,8	39,8	37,1	0,0159	1,77	Hefe Saaz.

Tabelle VIa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm (I.)	In pCt. der Würze bzw. des Bieres (II.)	Milchsäure in Summa in ccm n/10 (III.)	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren (IV.)	Milchsäure in ccm in pCt. vom Bier oder Würze (V.)	Milchsäure in g in 100 ccm Bier oder Würze (VI.)
10,69	5,34	3,72	34,8	1,85	0,0174
16,25	8,12	9,33	57,4	4,66	0,0444
15,15	6,89	5,79	42,1	2,89	0,0241

V. L. B.-Würze. — Gehopft (Würze-Schlauchbier).





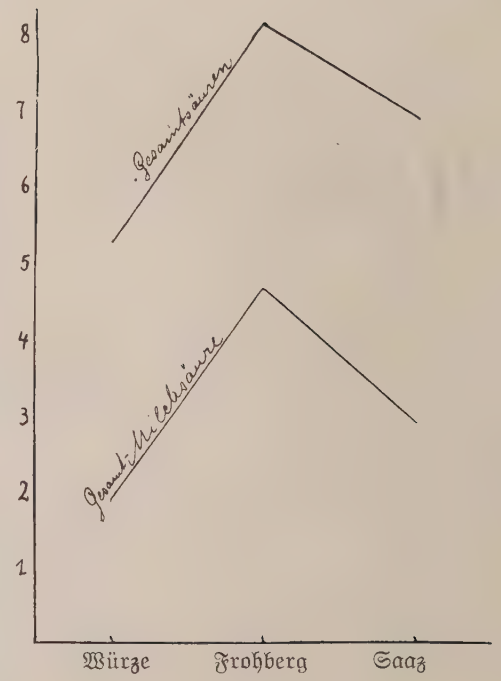


Tabelle VI b. ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

Tabelle VII. **V. L. B.-Würze. — Ungehopft. Schlauchbiere.**

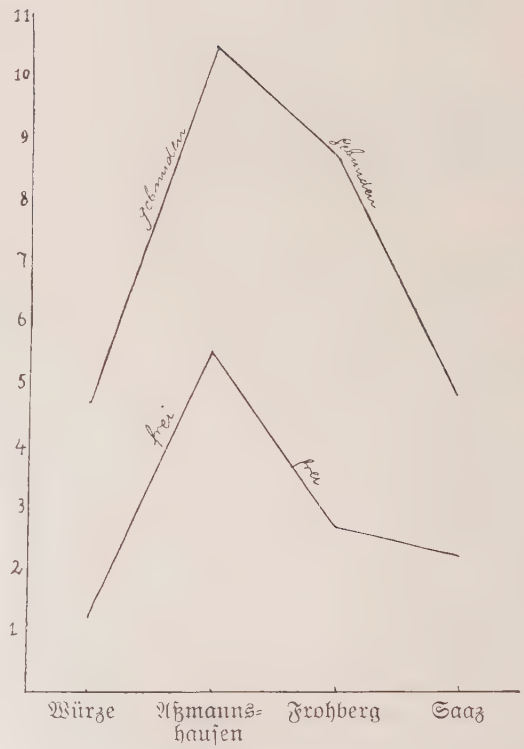
Direkte Titration ccm n/10			Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$	In pCt. der Würze bzw. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm	ccm n/10 Milchsäure in 100 ccm	Bemerkungen
Lackmus	Rosolsäure	Methylorange												
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
6,2	11,0	20,2	3,05	1,22	0,80	26,2	2,25	73,8	1,52	67,5	49,8	0,0055	0,61	Würze.
10,7	16,4	12,2	10,9	5,5	5,45	50,0	5,45	50,0	2,22	40,8	20,4	0,0199	2,21	Hefe Aßmannshausen.
13,5	18,5	12,8	9,97	2,21	2,6	26,1	7,37	73,8	2,77	37,6	27,8	0,0055	0,61	Hefe Saaz.
16,5	23,3	15,0	5,48	2,74	1,9	34,6	3,58	65,4	2,11	59,0	38,6	0,0095	1,05	Hefe Frohberg.
Gebundene Säuren.														
6,2	11,0	20,2	11,6	4,66	0,90	7,73	10,73	92,3	4,65	43,4	40,0	0,0168	1,87	Würze.
10,7	16,4	12,2	21,0	10,5	0,18	0,84	20,83	99,17	5,7	27,4	27,3	0,0258	2,87	Hefe Aßmannshausen.
13,5	18,5	12,8	21,83	4,86	1,1	5,04	20,73	94,96	6,9	33,3	31,6	0,0144	1,60	Hefe Saaz.
16,5	23,3	15,0	17,4	8,7	0,85	4,88	16,35	95,12	7,18	44,0	41,4	0,0323	3,59	Hefe Frohberg.

Tabelle VIIa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. der Würze bzw. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. der Würze bzw. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
14,35	5,74	6,35	43,3	2,54	Würze.
31,6	15,9	8,12	25,7	5,18	Hefe Aßmannshausen.
32,15	7,02	9,77	30,9	2,17	Hefe Saaz.
22,88	11,44	9,22	40,4	4,61	Hefe Frohberg.

V. L. B.-Würze. — Ungehopft (Schlauchbiere).

Hefen: Aßmannshausen, Frohberg, Saaz.



Gesamtsäuren.

Milchsäure.

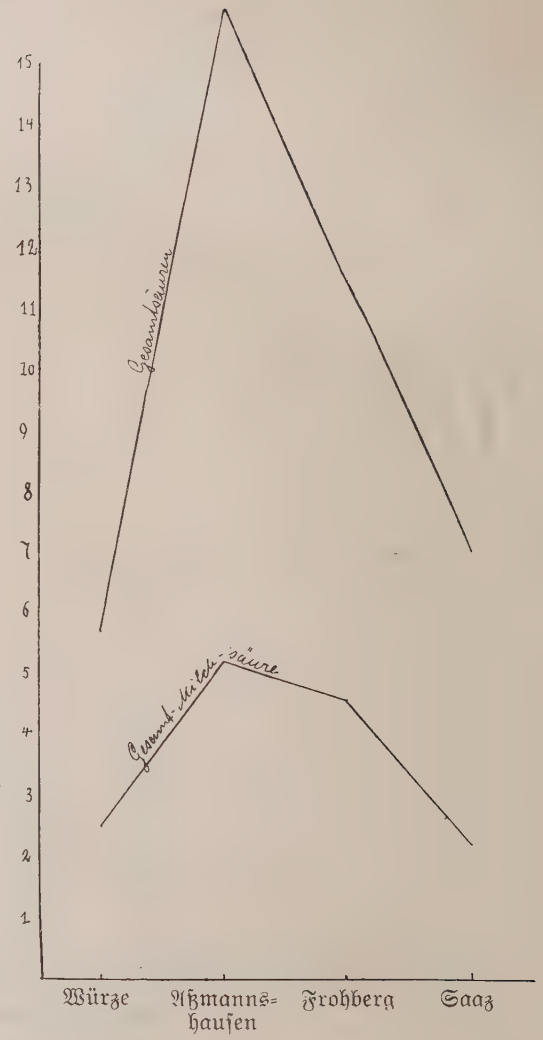


Tabelle VII b.

ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

Tabelle VIII. **V. L. B.-Würze. — Ungehopft mit Aßmannshauser Weinhefe.**

Direkte Titration ccm n/10			Summa ccm n/10 $Ba(OH_2)$	In pCt. der Würze bzw. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm	ccm n/10 Milchsäure in 100 ccm	Bemerkungen
Lackmus	Rosolsäure	Methylorange												
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
6,2	11,0	20,2	3,05	1,22	0,80	26,2	2,25	73,8	1,52	67,5	49,8	0,0055	0,61	Würze.
10,7	16,4	12,2	10,9	5,5	5,45	50,00	5,45	50,00	2,22	40,8	20,4	0,0199	2,21	Schlauchbier.
22,4	27,0	10,6	40,5	20,3	9,75	24,1	30,75	75,9	19,95	64,95	49,3	0,0898	9,98	Lagerbier.
Gebundene Säuren.														
6,2	11,0	20,2	11,3	4,52	0,85	7,5	10,45	92,5	4,83	46,2	42,7	0,0174	1,93	Würze.
10,7	16,4	12,2	20,7	10,4	0,70	0,97	20,5	99,03	5,9	28,8	28,5	0,0266	2,97	Schlauchbier.
22,4	27,0	10,6	22,15	11,08	0,45	2,03	21,70	97,97	11,6	53,5	52,0	0,0521	5,8	Lagerbier.

Tabelle VIIIa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. der Würze bzw. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. der Würze bzw. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
14,35	5,74	6,35	43,2	2,5	Würze.
31,6	15,9	8,1	25,6	5,2	Schlauchbier.
62,6	33,4	31,5	50,5	15,8	Lagerbier.

V. L. B.-Würze. Ungehopft. C

Hefe: Aß

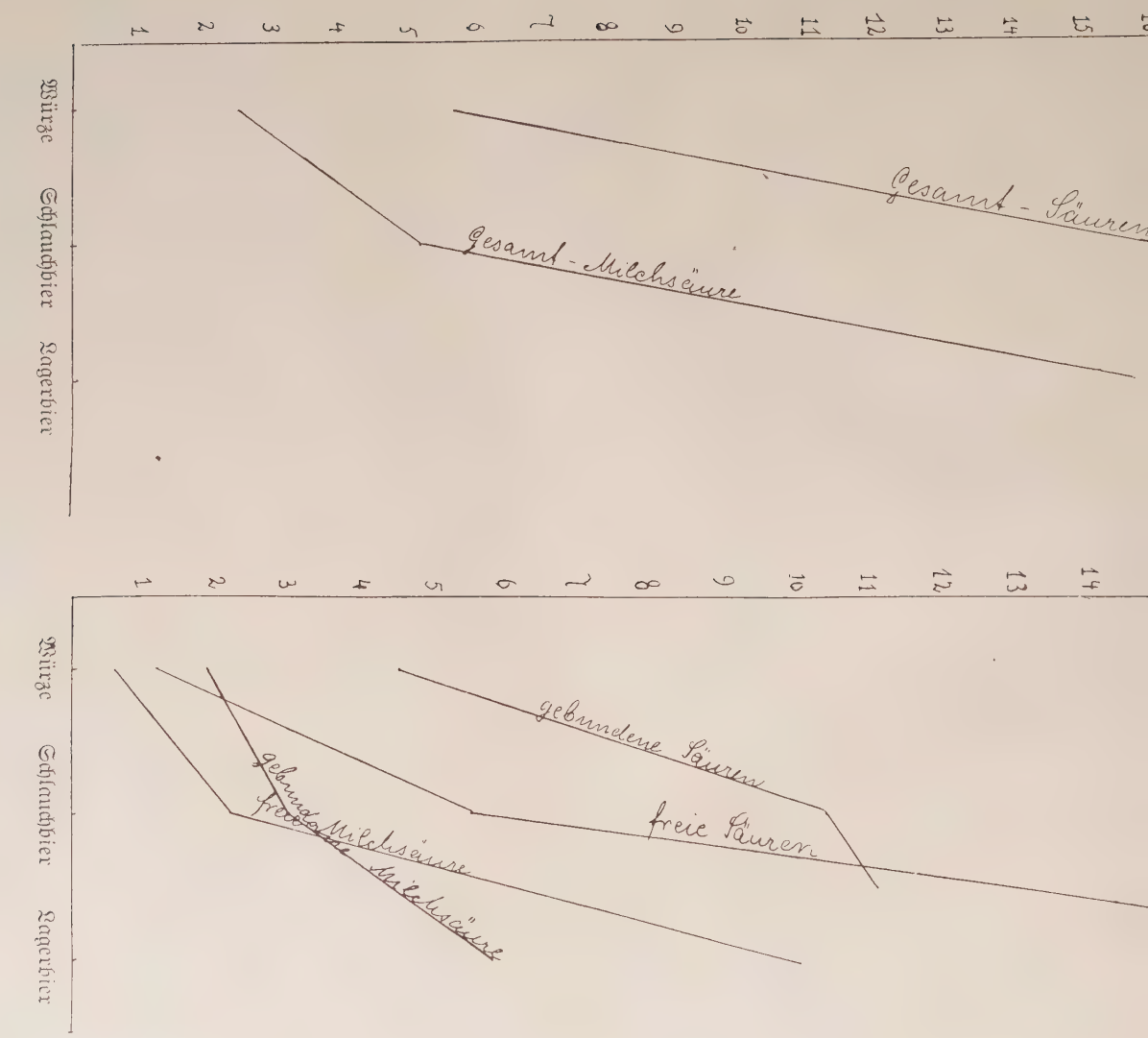
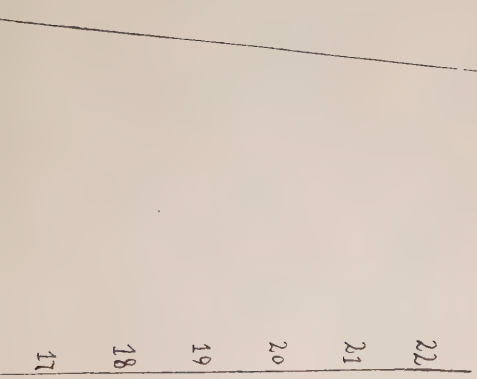


Tabelle VIIIb. ccm n/10-Säure

ren Doornkaat Koolman, Dissertation

- Schlauchbier — Lagerbier.)

ufen.



em Flüssigkeit.

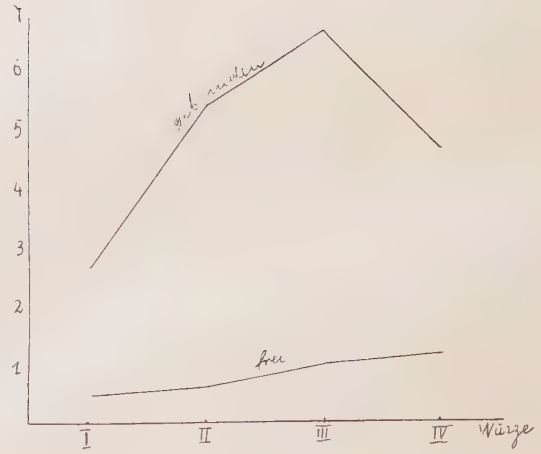
Tabelle IX. **A.-M.-Brauerei — Würzen I—IV.**

Direkte Titration ccm n/10 Lackmus	Direkte Titration ccm n/10 Rosolsäure	Direkte Titration ccm n/10 Methylorange	Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$	In pCt. der Würze	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm	ccm n/10 Milchsäure in 100 ccm	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
3,0	13,2	14,4	2,29	0,49	0,8	35,0	1,49	65,0	1,05	70,5	46,0	0,00204	0,227	Karbonatwürze.
4,2	10,0	20,2	1,36	0,57	0,4	29,4	0,96	70,6	0,82	85,5	60,4	0,0031	0,340	Bier aus Wasser, das mit Schwefelsäure entkarbonisiert ist.
7,2	16,4	22,6	1,96	0,98	0,8	40,8	1,16	59,2	1,05	90,5	53,5	0,0047	0,522	Bier aus neutralisiertem Brauwasser (Eiweißrast).
5,6	13,0	19,6	2,18	1,21	0,45	20,6	1,73	79,4	1,41	81,4	64,7	0,0063	0,900	Bier aus abgekochtem Brauwasser.
Gebundene Säuren.														
3,0	13,2	14,4	6,0	2,61	0,75	12,5	5,25	87,5	2,98	57,0	46,0	0,0117	1,30	Karbonatwürze.
4,2	10,0	20,2	12,9	5,38	0,48	3,68	12,43	96,3	4,25	34,2	29,1	0,0159	1,78	Bier aus Wasser, das mit Schwefelsäure entkarbonisiert ist.
7,2	16,4	22,6	13,4	6,7	0,6	4,48	12,8	95,5	5,07	39,63	37,85	0,0227	2,52	Bier aus neutralisiertem Brauwasser (Eiweißrast).
5,6	13,0	19,6	9,47	4,74	0,4	4,23	9,07	95,8	5,8	64,3	61,2	0,0289	3,22	Bier aus abgekochtem Brauwasser.

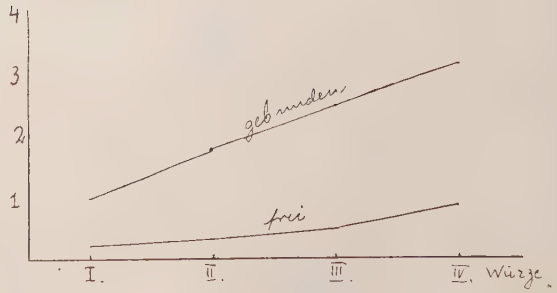
Tabelle IXa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. der Würze	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. der Würze	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
8,29	3,10	4,03	48,7	1,53	Karbonatwürze.
14,26	5,95	5,08	35,6	2,17	Bier aus Wasser, das mit Schwefelsäure entkarbonisiert ist.
15,36	7,67	6,12	39,8	3,04	Bier aus neutralisiert. Brauwasser (Eiweißrast).
11,65	6,47	7,21	62,0	4,12	Bier aus abgekochtem Brauwasser.

A.-M.-Brauerei. — Würzen I– IV.



Gesamtsäuren.



Milchsäure.

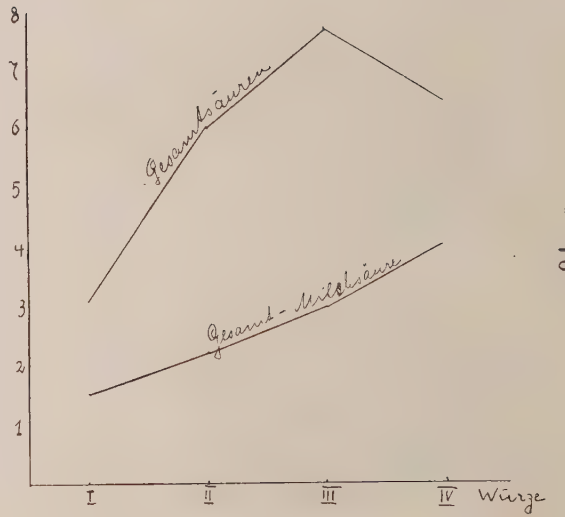


Tabelle IX b.

ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

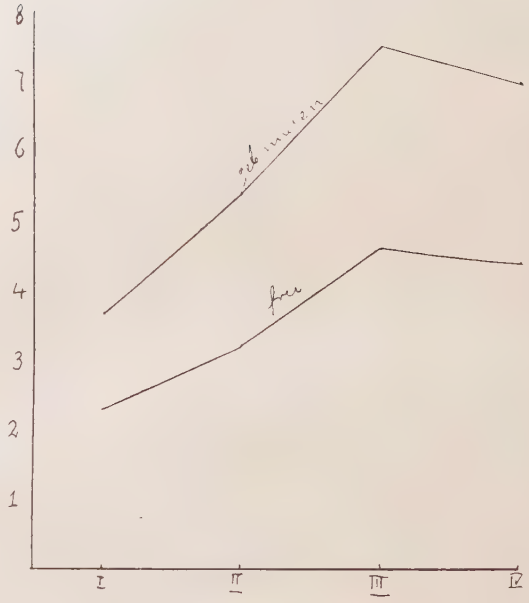
Tabelle X. **A.-M.-Brauerei — Schlauchbier.**

Direkte Titration ccm n/10 Lackmus	Direkte Titration ccm n/10 Rosolsäure	Direkte Titration ccm n/10 Methylorange	Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$	In pCt. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm Bier	ccm n/10 Milchsäure, ausgedrückt in pCt. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
8,5	14,8	15,2	11,3	2,3	4,5	39,8	6,8	60,2	—	—	—	—	—	Karbonatbier.
9,9	13,5	12,2	15,2	3,2	5,2	33,5	10,0	66,5	7,3	73,0	43,1	0,0136	1,51	Bier aus Wasser, das mit Schwefelsäure entkarbonisiert ist.
11,6	18,4	11,0	22,0	4,6	10,55	48,0	11,45	52,0	6,2	54,15	28,2	0,0124	1,31	Bier aus neutralisiertem Brauwasser. (Eiweißrast.)
10,0	17,0	15,8	19,4	4,4	6,2	32,0	13,2	68,0	5,23	39,6	27,0	0,0107	1,19	Bier aus abgekochtem Brauwasser.
Gebundene Säuren.														
8,5	14,8	15,2	19,4	3,7	4,3	22,1	15,13	77,9	—	—	—	—	—	Karbonatbier.
9,9	13,5	12,2	25,8	5,4	1,5	5,8	24,3	94,2	11,53	47,4	44,7	0,0216	2,4	Bier aus Wasser, das mit Schwefelsäure entkarbonisiert ist.
11,6	18,4	11,0	35,5	7,5	3,15	8,88	32,35	91,12	13,78	42,2	38,8	0,0262	2,9	Bier aus neutralisiertem Brauwasser. (Eiweißrast.)
10,0	17,0	15,8	30,8	7,0	3,0	9,75	27,85	90,25	7,75	27,89	25,2	0,0155	1,72	Bier aus abgekochtem Brauwasser.

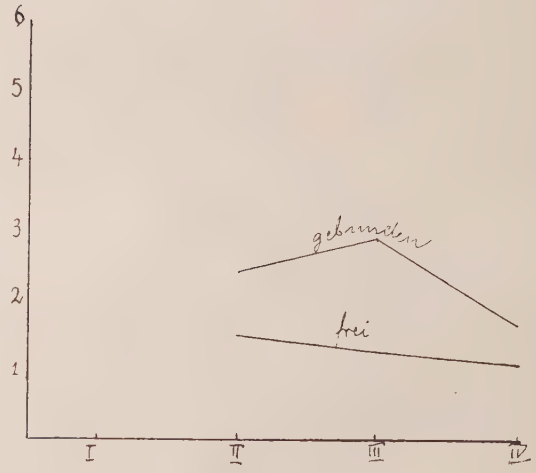
Tabelle Xa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
30,7	6,26	—	—	—	Karbonatbier.
41,0	8,55	18,83	46,0	3,92	Bier aus Wasser, das mit Schwefelsäure entkarbonisiert ist.
57,0	12,0	19,98	35,0	4,20	Bier aus neutralisiert. Brauwasser (Eiweißrast).
50,2	11,40	12,98	25,9	2,7	Bier aus abgekochtem Brauwasser.

A.-M.-Brauerei. — Schlauchbiere I—IV.



Gesamtsäuren



Milchsäure

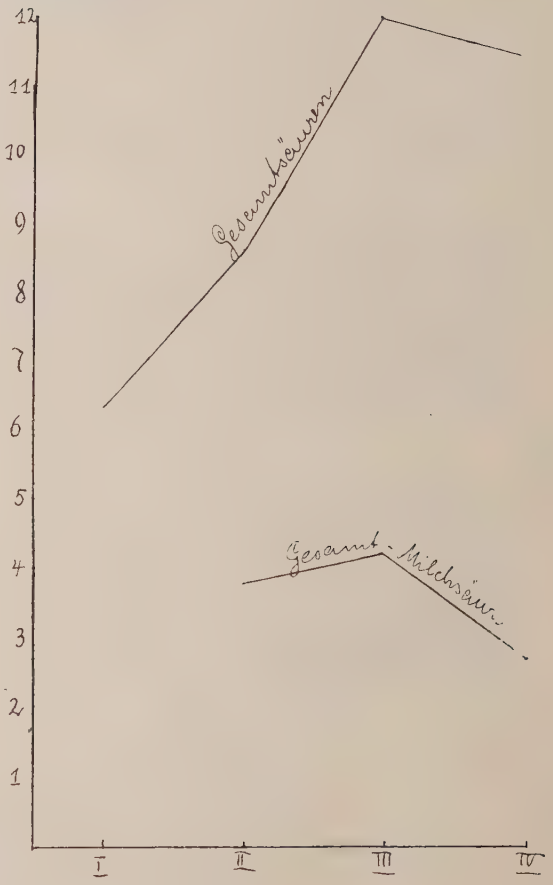
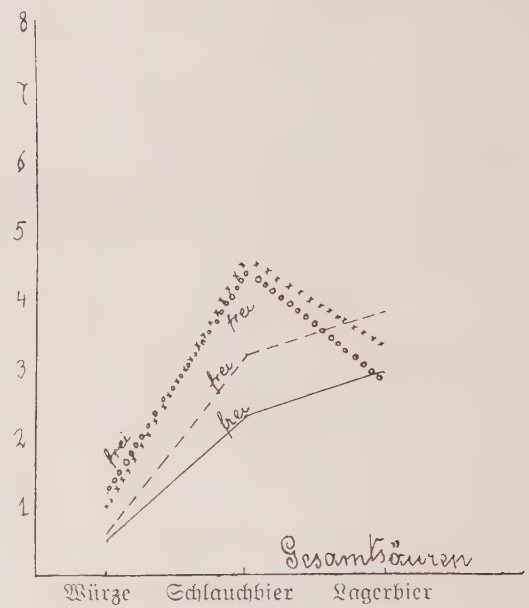


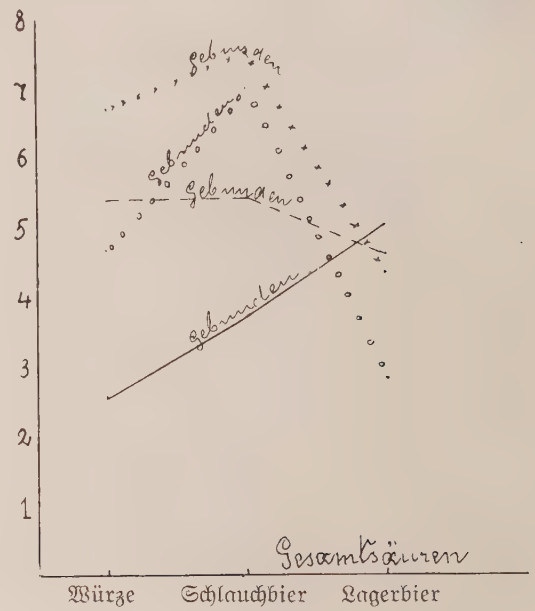
Tabelle Xb.

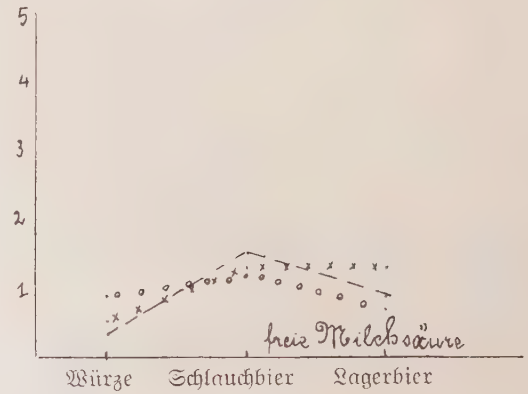
ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

A.M.-Brauerei.

Graphische Darstellung des Säuregehaltes der vier Biere: Würze — Schlauchbier — Lagerbier.







Zeichenerklärung:

Bier I
" II
" III
" IV

Tabelle Xc.

ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

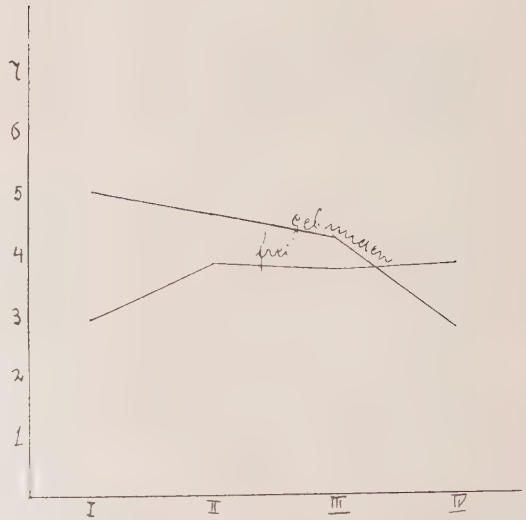
Tabelle XI. **A.-M.-Brauerei — Lagerbiere I IV.**

Direkte Titration ccm n/10			Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$	In pCt. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm Bier	ccm n/10 Milchsäure ausgedrückt in pCt. des Bieres	Bemerkungen
Lackmus	Rosolsäure	Methylorange												
I.	II.	III.	VI.	V.	IV.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
7,5	12,5	12,0	13,8	2,88	4,8	34,8	9,0	65,2	6,15	70,00	46,6	0,0115	1,3	Karbonatbier.
9,0	14,4	11,0	18,2	3,79	3,8	20,9	14,4	79,1	4,06	28,2	22,3	0,0076	0,9	Bier aus mit Schwefelsäure neutralisiertem Brauwasser.
9,2	16,8	10,4	18,2	3,65	10,1	55,5	8,1	44,5	6,2	76,5	34,0	0,0116	1,3	Bier aus neutralisiertem Brauwasser (Eiweißrast).
8,2	15,6	12,2	19,17	3,78	19,8	69,0	8,9	31,0	5,68	63,8	19,8	0,0067	0,75	Bier aus abgekochtem Brauwasser.
Gebundene Säuren.														
7,5	12,5	12,0	23,95	5,00	1,15	4,8	22,80	95,2	11,2	49,2	46,7	0,0210	2,34	Karbonatbier.
9,0	14,4	11,0	22,05	4,60	1,2	5,40	20,85	94,75	8,27	39,68	37,50	0,0155	1,7	Bier aus mit Schwefelsäure neutralisiertem Brauwasser.
9,2	16,8	10,4	20,4	4,25	1,1	4,95	19,3	95,05	8,3	43,0	40,7	0,0156	1,74	Bier aus neutralisiertem Brauwasser (Eiweißrast).
8,2	15,6	12,2	20,9	2,75	3,4	16,3	17,5	83,7	9,27	53,0	43,3	0,0110	1,2	Bier aus abgekochtem Brauwasser.

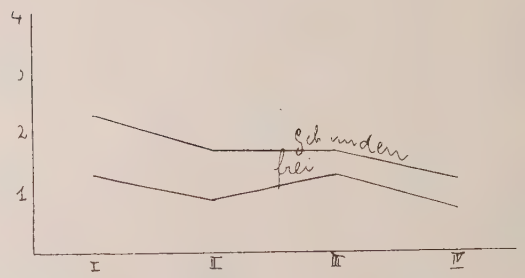
Tabelle XIa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
37,9	7,88	17,75	46,8	3,7	Karbonatbier.
40,25	8,38	12,33	30,6	2,57	Bier aus mit Schwefelsäure neutralisiertem Brauwasser.
38,6	8,04	14,95	38,7	3,12	Bier aus neutralisiert. Brauwasser (Eiweißrast).
49,6	6,54	14,95	30,2	1,97	Bier aus abgekochtem Brauwasser.

A.-M.-Brauerei. — Lagerbiere I—IV.



Gesamtsäuren.



Milchsäure.

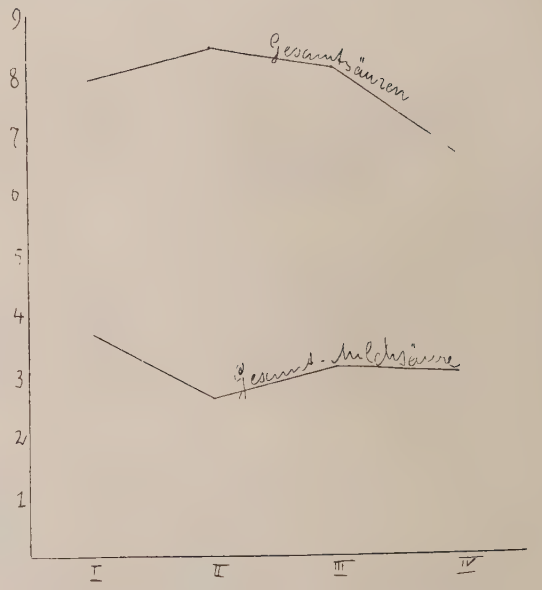


Tabelle XIb. ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

Tabelle XII.

St.-M.-Brauerei — Schlauchbiere.

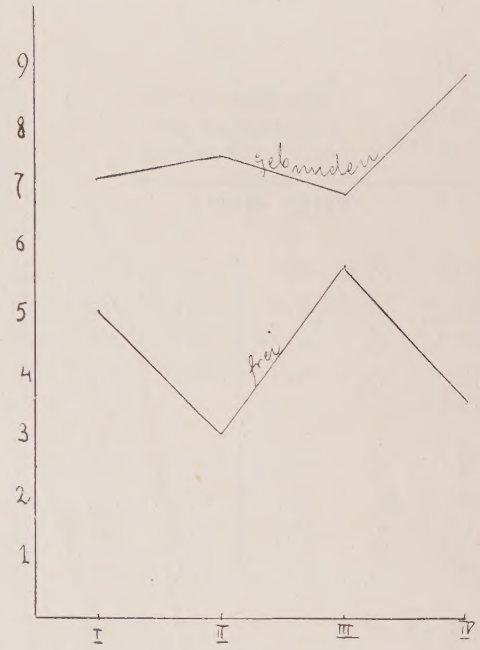
Direkte Titration ccm n/10			Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$	In pCt. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm Bier	ccm n/10 Milchsäure ausgedrückt in pCt. des Bieres	Bemerkungen
Lackmus	Rosolsäure	Methylorange												
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
15,0	24,0	12,2	9,95	4,98	4,1	41,2	5,85	58,5	3,08	52,7	31,0	0,0138	1,5	Chloridbier.
9,5	17,6	11,5	6,0	3,0	2,1	34,2	3,95	65,8	2,23	56,6	37,2	0,0101	1,1	Sulfatbier.
13,0	19,4	14,2	28,6	5,7	11,05	38,8	17,5	61,2	11,3	64,7	39,8	0,0203	2,2	Nachgußwasserbier.
12,5	17,7	13,0	8,92	4,5	4,25	47,7	4,67	52,3	3,47	74,2	38,8	0,0156	1,8	Karbonatbier.
Gebundene Säuren.														
15,0	24,0	12,2	14,1	7,05	0,9	6,4	13,2	93,62	7,28	55,1	51,6	0,0325	3,6	Chloridbier.
9,5	17,6	11,5	15,02	7,52	0,55	3,64	14,47	96,36	5,82	40,2	38,7	0,0262	2,9	Sulfatbier.
13,0	19,4	14,2	32,8	6,92	2,7	8,24	30,1	91,76	13,85	46,0	42,2	0,0271	3,0	Nachgußwasserbier.
12,5	17,7	13,0	17,84	8,92	0,65	3,65	17,19	96,35	2,98	16,7	16,1	0,0128	1,4	Karbonatbier.

Tabelle XIIa.

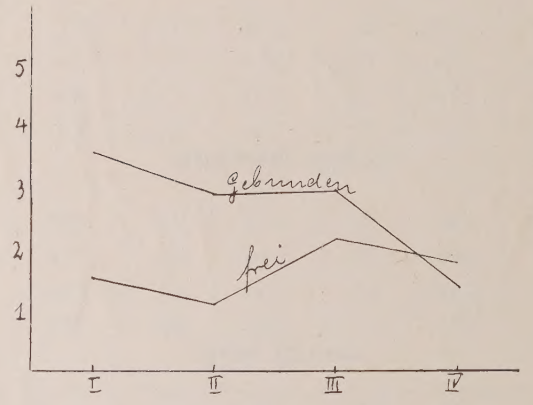
Summe der freien und gebundenen Säuren.

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
24,1	12,0	10,4	40,3	5,1	Chloridbier.
21,0	10,5	8,0	38,4	4,0	Sulfatbier
61,4	13,3	25,2	57,5	5,0	Nachgußwasserbier.
26,8	13,4	6,3	23,6	3,2	Karbonatbier.

St.-M.-Brauerei. — Schlauchbiere I—IV.



Gesamtsäuren.



Milchsäure.

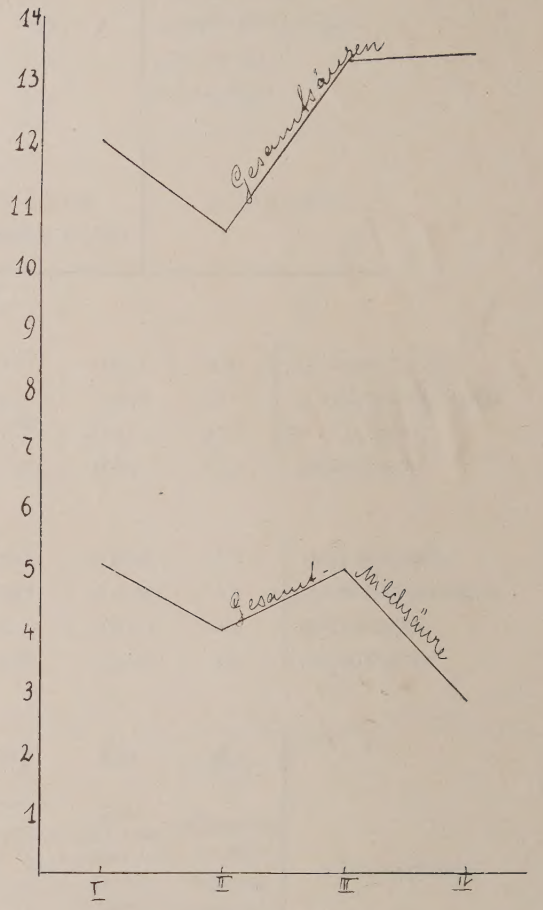


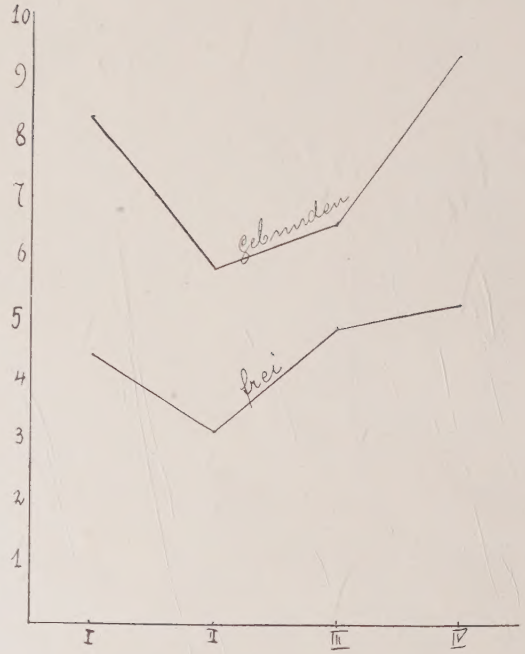
Tabelle XIIb. ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

Tabelle XIII. **St.-M.-Brauerei — Lagerbiere I—IV.**

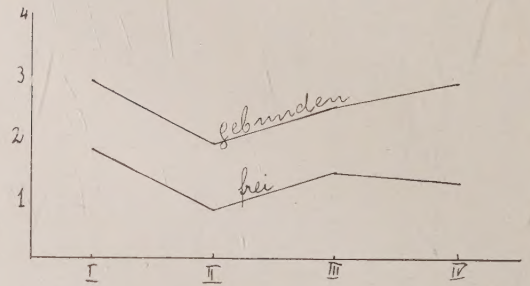
Direkte Titration ccm n/10			Summa ccm n/10 $Ba(OH)_2$	In pCt. des Bieres	Davon flüchtige Säuren n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Davon fixe Säure n/10	In pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Milchsäure ccm n/10	Milchsäure in pCt. der fixen Säuren	Milchsäure in pCt. der freien bzw. gebundenen Säuren	Gramm freie bzw. gebundene Milchsäure in 100 ccm Bier	ccm n/10 Milchsäure ausgedrückt in pCt. des Bieres	Bemerkungen
Lackmus	Rosolsäure	Methylorange												
I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.	XIII.	XIV.	
Freie Säuren.														
9,5	14,6	11,5	8,8	4,4	4,2	47,2	4,65	52,8	3,6	72,4	41,0	0,0164	1,8	Chlorid-Bier.
9,6	16,0	11,0	11,5	3,1	6,7	58,2	4,8	41,8	2,9	61,2	25,5	0,0071	0,8	Sulfat-Bier.
9,2	23,0	11,1	9,5	4,85	4,1	43,3	5,4	56,7	2,7	50,0	28,4	0,0122	1,4	Nachgußwasser-Bier.
9,8	16,8	10,8	10,4	5,2	3,6	34,6	6,8	65,4	2,4	34,8	22,8	0,0165	1,2	Karbonat-Bier.
Gebundene Säuren.														
9,5	14,6	11,5	16,6	8,3	1,4	8,4	15,2	91,5	5,9	38,8	35,6	0,0266	2,9	Chlorid-Bier.
9,6	16,0	11,0	21,6	5,8	1,9	8,8	19,7	91,2	7,2	36,4	33,2	0,0177	1,9	Sulfat-Bier.
9,2	23,0	11,1	13,0	6,5	0,8	6,15	12,2	93,85	5,0	40,9	38,2	0,0224	2,5	Nachgußwasser-Bier.
9,8	16,8	10,8	18,5	9,3	1,35	7,29	17,15	92,71	5,8	33,8	31,4	0,0261	2,9	Karbonat-Bier.

Tabelle XIIIa. **Summe der freien und gebundenen Säuren.**

Summe der freien und gebundenen Säuren n/10 ccm	In pCt. des Bieres	Milchsäure in Summa in ccm n/10	Milchsäure in pCt. der gesamten Säuren	Milchsäure in pCt. des Bieres	Bemerkungen
I.	II.	III.	IV.	V.	
25,4	12,7	9,5	37,4	4,75	Chlorid-Bier.
33,1	8,3	10,12	30,6	2,70	Sulfat-Bier.
22,5	11,3	7,68	34,1	3,8	Nachgußwasser-Bier.
28,9	14,5	8,2	27,3	4,1	Karbonat-Bier.



Gesamtsäuren.



Milchsäure.

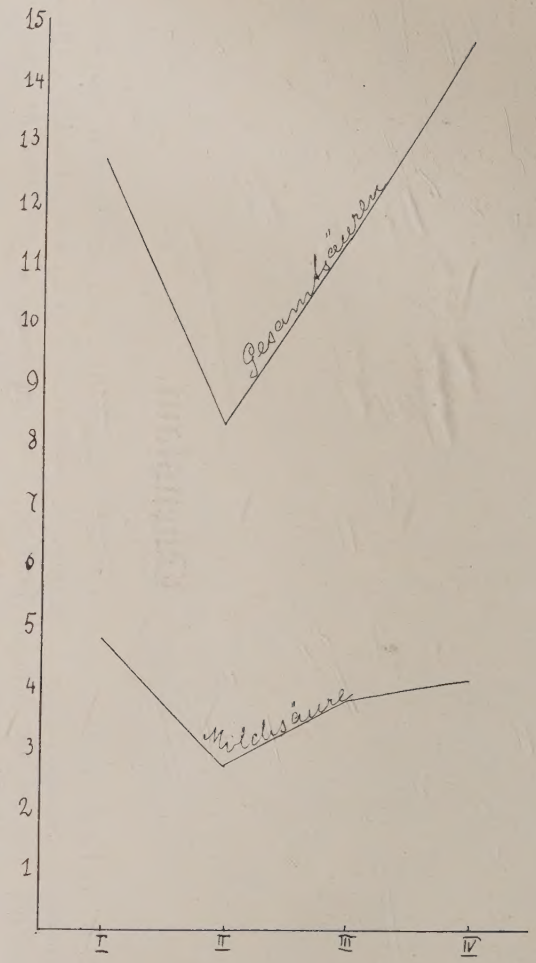


Tabelle XIII b.

ccm n/10-Säure in 100 ccm Flüssigkeit.

Lebenslauf.

Ich, Fiepko Carl ten Doornkaat Koolman, mennonitischen Glaubensbekenntnisses, bin am 18. Februar 1886 zu Westgaste bei Norden in Ostfriesland als Sohn des Brauereibesitzers Herman ten Doornkaat Koolman geboren. Ich besuchte bis Ostern 1906 das Königliche Ulrichs-Gymnasium zu Norden, das ich mit dem Reifezeugnis verließ. Da ich mich dem Studium der Chemie und Botanik widmen wollte, mir zugleich aber auch einige maschinentechnische Kenntnisse anzueignen gedachte, bezog ich die Königlich Technische Hochschule zu Charlottenburg und blieb dort bis Michaelis 1908. Ich ließ mich von da ab an der Königlichen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin einschreiben, die ich Michaelis 1910 verließ. Mein Verbandsexamen legte ich am 14. Juli 1908 ab.

Seitdem bin ich an dem von Herrn Geheimrat Delbrück geleiteten Institut für Gärungsgewerbe als Assistent tätig. Hier habe ich im technisch-wissenschaftlichen Laboratorium unter Leitung des Herrn Professor Dr. W. Windisch meine Dissertation angefertigt. Letztgenannten beiden Herren bin ich für ihr mir stets bewiesenes Wohlwollen und ihre Unterstützung zu großem Danke verpflichtet.

Meine Lehrer waren in Charlottenburg: Erdmann, E. Müller, Hauser, Schuberg, Liebermann, v. Knorre, Pilger, Simonis, Witt.

In Berlin: Drude, Lindau, Nernst, Riehl, Schwendener, Wichelhaus.

Tag der Promotion: 17. Dezember 1913.